



Universidad
Nacional
de Loja

Universidad Nacional de Loja

Facultad de la Salud Humana

Carrera de Laboratorio Clínico

Tipificación de *Candida* y antifungigrama en muestras de secreción vaginal de mujeres embarazadas del Centro de Salud Universitario de Motupe

Trabajo de Integración
Curricular previo a la obtención
del título de Licenciado en
Laboratorio Clínico

AUTOR:

Fabián Alejandro Rosales Castro

DIRECTOR:

Alicia Silvana Villavicencio Obando, PhD

Loja – Ecuador

2023

Certificación



unl

Universidad
Nacional
de Loja

CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

Facultad
de la Salud
Humana

Loja, 22 de marzo de 2023

Sra. Dra.

Sandra Freire Cuesta, Esp.

GESTORA ACADÉMICA DE LA CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

Ciudad. –

Por medio de la presente, certifico que tras la adecuada asesoría y riguroso monitoreo científico, se ha verificado que el trabajo de integración curricular titulado "Tipificación de *Candida* y antifungigrama en muestras de secreción vaginal de mujeres embarazadas del Centro de Salud Universitario de Motupe", elaborado por el Sr. Fabián Alejandro Rosales Castro, cumple con las disposiciones institucionales, metodológicas y técnicas establecidas para esta actividad académica. En consecuencia, se confirma que dicho trabajo ha sido culminado y aprobado, y se autoriza a continuar con el proceso de titulación.

Atentamente,



Alicia Villavicencio Obando, PhD

DOCENTE DE LA CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

Autoría

Yo, **Fabián Alejandro Rosales Castro**, declaro ser autor del presente Trabajo de Integración Curricular y eximo expresamente a la Universidad Nacional de Loja y a sus representantes jurídicos, de posibles reclamos y acciones legales, por el contenido del mismo. Adicionalmente acepto y autorizo a la Universidad Nacional de Loja la publicación de mi Trabajo de Integración Curricular en el Repositorio Digital Institucional – Biblioteca Virtual.

Firma:



Cédula de identidad: 1106052515

Fecha: 24 de mayo de 2023

Correo electrónico: fabian.rosales@unl.edu.ec

Celular: 0939056334

Carta de autorización

Yo, **Fabián Alejandro Rosales Castro**, declaro ser el autor del Trabajo de integración Curricular denominado: **Tipificación de *Candida* y antifungigrama en muestras de secreción vaginal de mujeres embarazadas del Centro de Salud Universitario de Motupe**, como requisito para optar por el título de: **Licenciado en Laboratorio Clínico**, autorizo al sistema Bibliotecario de la Universidad Nacional de Loja para que, con fines académicos, muestre la producción intelectual de la Universidad, a través de la visibilidad de su contenido en el Repositorio Institucional.

Los usuarios pueden consultar el contenido de este trabajo en el Repositorio Institucional, en las redes de información del país y del exterior con las cuales tenga convenio la Universidad. La Universidad Nacional de Loja, no se responsabiliza por el plagio o copia del Trabajo de Integración Curricular que realice un tercero.

Para constancia de esta autorización, en la ciudad de Loja, a los veinticuatro días del mes de mayo de dos mil veintitrés.

Firma:



Autor: Fabián Alejandro Rosales Castro

Cédula: 1106052515

Dirección: Av. Villonaco y C-06-42 (Condominios San Francisco de Obrapia)

Correo electrónico: fabian.rosales@unl.edu.ec

Celular: 0939056334

DATOS COMPLEMENTARIOS

Director del trabajo de integración curricular: Alicia Silvana Villavicencio Obando, PhD

Dedicatoria

Este trabajo de integración curricular está dedicado a mis queridos padres, sin su ayuda desinteresada no hubiera sido posible cumplir mi meta de culminar mis estudios universitarios, han sido mis pilares y guías en todos los momentos de incertidumbre que se han presentado, sin sus enseñanzas hubiera sido difícil prosperar en situaciones difíciles, por lo que este trabajo es una prueba de su amor y dedicación hacia mi persona. Espero que este logro haga sentir orgullosos a todos mis seres queridos, muchas gracias por acompañarme en este camino.

Fabián Alejandro Rosales Castro

Agradecimiento

Mi agradecimiento es para todos los docentes que formaron parte de mi vida académica en la Universidad Nacional de Loja, por compartir su tiempo, experiencia y sabiduría conmigo, por el esfuerzo que han dedicado a cada clase. Este trabajo es testigo de su gran trabajo, y yo como estudiante no puedo estar más orgulloso de haber compartido el aula con personas tan capacitadas.

A mi directora, la Dra. Alicia Villavicencio gracias por su apoyo, dedicación y compromiso en sus funciones, lo cual me permitió desarrollar este trabajo y lograr las metas establecidas.

También es importante mencionar mi agradecimiento especial a las autoridades que me permitieron hacer este trabajo en el Centro de Salud de Motupe y hacer uso de sus instalaciones, y a los docentes miembros de la comisión de vinculación de la carrera de Laboratorio Clínico de la Facultad de la Salud Humana: Lic. Daniel Riascos, Lcda. Iliana Delgado, Lcda. Ivanova Zúñiga y Lcda. María del Cisne Luzuriaga, incluyendo a la técnica docente Lic. Silvia Molina encargada del Laboratorio de Microbiología y Parasitología los cuales me brindaron su generosa ayuda a lo largo de la realización del presente trabajo demostrando su gran valor profesional y humano.

Fabián Alejandro Rosales Castro

Índice de contenidos

Portada.....	i
Certificación	ii
Autoría	iii
Carta de autorización	iv
Dedicatoria	v
Agradecimiento	vi
Índice de contenidos.....	vii
Índice de tablas.....	ix
Índice de figuras.....	x
Índice de anexos	xi
1 Título.....	1
2 Resumen	2
2.1 Abstract	3
3 Introducción.....	4
4 Marco teórico.....	6
4.1 La vagina y la flora vaginal	6
4.2 Secreción vaginal	6
4.3 Infección vaginal o vaginitis infecciosa.....	6
4.4 Los hongos del género <i>Candida</i>	7
4.5 Candidosis vulvovaginal (CVV)	7
4.5.1 Clasificación de la CVV	8
4.6 Epidemiología de la CVV	8
4.6.1 Factores de riesgo en embarazadas para contraer CVV.....	8
4.6.2 Posibles complicaciones de la colonización asintomática y la CVV durante el embarazo.....	9

4.7	Pruebas de laboratorio para la identificación de <i>Candida</i> en la secreción vaginal	9
4.8	Antimicóticos – azólicos	10
4.8.1	Resistencia de las levaduras del género <i>Candida</i> a los azoles.....	11
5	Metodología.....	12
5.1	Tipo de estudio.....	12
5.2	Área de estudio	12
5.3	Universo.....	12
5.4	Muestra	12
5.5	Criterios de inclusión	12
5.6	Criterios de exclusión.....	12
5.7	Equipos y materiales	12
5.7.1	Fase pre analítica.....	12
5.7.2	Fase analítica	13
5.7.3	Fase post analítica	13
5.8	Instrumentos de recolección de datos.....	13
5.9	Presentación de datos.....	14
5.10	Fuentes de información.....	14
5.11	Consideraciones legales y éticas	14
6	Resultados	15
7	Discusión.....	18
8	Conclusiones.....	21
9	Recomendaciones.....	22
10	Bibliografía.....	23
11	Anexos.....	28

Índice de tablas

Tabla 1 Especies identificadas mediante CHROMagar-Candida aisladas de muestras de secreción vaginal durante el periodo octubre 2022 – marzo 2023	15
Tabla 2 Susceptibilidad a antifúngicos de las especies de Candida aisladas de muestras de secreción vaginal durante el periodo octubre 2022 – marzo 2023	17

Índice de figuras

Figura 1 Especies identificadas mediante CHROMagar-Candida aisladas de muestras de secreción vaginal durante el periodo octubre 2022 – marzo 2023	16
Figura 2 Susceptibilidad a antifúngicos de las especies de Candida aisladas de muestras de secreción vaginal durante el periodo octubre 2022 – marzo 2023	17

Índice de anexos

Anexo 1. Oficio de estructura, coherencia y pertinencia para ejecutar la investigación.	28
Anexo 2. Oficio de permiso para el procesamiento de muestras en el Laboratorio de Parasitología y Microbiología de la Facultad de la Salud Humana	29
Anexo 3. Consentimiento informado	30
Anexo 4. Hoja de recolección de datos	32
Anexo 5. Protocolo para la preparación del paciente, toma de muestra, conservación y transporte de secreción vaginal	33
Anexo 6. Protocolo de preparación y almacenamiento de agar Sabouraud	37
Anexo 7. Protocolo de preparación y almacenamiento de agar Mueller-Hinton suplementado con glucosa y azul de metileno	40
Anexo 8. Protocolo de preparación y almacenamiento del agar CHROMagar <i>Candida</i>	43
Anexo 9. Hoja de registro de temperatura de la incubadora	46
Anexo 10. Protocolo de control de calidad del antifungigrama mediante el uso de la cepa control <i>Candida albicans</i> ATCC 90028	48
Anexo 11. Protocolo de la técnica de siembra e incubación de las muestras de secreción vaginal en agar Sabouraud.	51
Anexo 12. Protocolo de antifungigrama en agar Mueller-Hinton suplementado con glucosa y azul de metileno.	54
Anexo 13. Protocolo de siembra de levaduras en CHROMagar <i>Candida</i>, incubación e identificación de la especie.	58
Anexo 14. Hoja de reporte de microbiología	61
Anexo 15. Formato de reporte de resultados	62
Anexo 16. Protocolo eliminación de desechos (medios de cultivo)	63
Anexo 17. Proceso de entrega de resultados al Centro de Salud Universitario de Motupe	65
Anexo 18. Evidencias fotográficas.	67

Anexo 19. Certificado de inglés..... 74

1 Título

Tipificación de *Candida* y antifungigrama en muestras de secreción vaginal de mujeres embarazadas del Centro de Salud Universitario de Motupe

2 Resumen

Los hongos del género *Candida spp.* son la segunda causa más común de infección vaginal a nivel mundial, y las mujeres embarazadas son más propensas a contraer estas infecciones debido a los cambios hormonales y la debilidad del sistema inmunológico. La vulvovaginitis por *Candida* y la colonización asintomática pueden tener consecuencias negativas para el embarazo y el recién nacido. Además, el uso no responsable de antifúngicos puede llevar al desarrollo de cepas resistentes, lo que dificulta el tratamiento. Para abordar estos problemas, se realizó un estudio de diseño cuantitativo, de tipo no experimental, y de corte transversal descriptivo para identificar las especies de *Candida* presentes en muestras de secreción vaginal de mujeres embarazadas, y para evaluar la susceptibilidad de estas especies a los antifúngicos azoles. El estudio, que tuvo lugar entre octubre de 2022 y marzo de 2023, incluyó a 64 mujeres embarazadas cuyas muestras de secreción vaginal se procesaron en el Laboratorio de Parasitología y Microbiología de la Facultad de la Salud Humana. Se identificaron 14 aislados de *Candida*, siendo las especies del complejo *Candida albicans* las más frecuentes, encontrándose en el 93% (n=13) de los aislados, y el resto correspondiendo a *Candida krusei*. Se determinó que todos los aislados del complejo *C. albicans* fueron sensibles al fluconazol, y solo un 8% (n=1) de ellos fue resistente al voriconazol. El aislado de *C. krusei*, por su parte, fue intrínsecamente resistente al fluconazol, pero sensible al voriconazol. En conclusión, este estudio proporciona información valiosa sobre las especies de *Candida* y su susceptibilidad a los antifúngicos azoles en mujeres embarazadas. Estos hallazgos pueden ayudar a mejorar el tratamiento de las infecciones por *Candida* en este grupo de pacientes, reduciendo así los riesgos asociados con estas infecciones durante el embarazo y el parto.

Palabras clave: candidiasis, embarazo, antimicóticos, *Candida albicans*.

2.1 Abstract

Fungi of the genus *Candida* spp. are the second most common cause of vaginal infection worldwide, and pregnant women are more prone to these infections due to hormonal changes and a weak immune system. *Candida* vulvovaginitis and asymptomatic colonization can have negative consequences for pregnancy and the newborn. In addition, the irresponsible use of antifungals can lead to the development of resistant strains, making treatment difficult. To address these issues, a quantitative, non-experimental, cross-sectional, descriptive design study was conducted to identify *Candida* species present in vaginal secretion samples from pregnant women, and to assess the susceptibility of these species to azole antifungals. The study, which took place between October 2022 and March 2023, included 64 pregnant women whose vaginal secretion samples were processed in the Laboratory of Parasitology and Microbiology of the Faculty of Human Health. 14 *Candida* isolates were identified, being the species of the *Candida albicans* complex the most frequent, found in 93% (n=13) of the isolates, and the rest corresponding to *Candida krusei*. It was determined that all isolates of the *C. albicans* complex were sensitive to fluconazole, and only 8% (n=1) of them were resistant to voriconazole. The *C. krusei* isolate, for its part, was intrinsically resistant to fluconazole, but sensitive to voriconazole. In conclusion, this study provides valuable information on *Candida* species and their susceptibility to azole antifungals in pregnant women. These findings may help improve the treatment of *Candida* infections in this group of patients, thereby reducing the risks associated with these infections during pregnancy and delivery.

Keywords: candidiasis, pregnancy, antifungal agents, *Candida albicans*.

3 Introducción

Los hongos levaduriformes del género *Candida* forman parte del microbioma normal de la piel, mucosas y tubo digestivo, pero también pueden ser responsables de micosis oportunistas, como la vulvovaginitis por *Candida* (CVV), una infección superficial que se caracteriza por síntomas como irritación, prurito vulvar y secreción vaginal anormal de color blanco (Riedel et al., 2020).

A nivel mundial, la CVV es la segunda causa más común de infección vaginal (Orellana y Pacheco, 2021) y se estima que al menos el 75% de las mujeres sexualmente activas experimentará un episodio de CVV en su vida. Si bien el complejo *Candida albicans* es el agente etiológico más común en el 90% de los casos, se ha observado un aumento en la prevalencia de especies *no albicans*, como *C. krusei*, *C. tropicalis*, *C. glabrata* y *C. parapsilosis* (Aroca et al., 2020).

En Ecuador, la CVV es una de las diez infecciones genitourinarias más frecuentes durante el embarazo. Por ejemplo, se identificó que esta infección estaba presente en el 62,6% de los casos de infecciones vaginales de las pacientes que acudieron al servicio de ginecología y obstetricia del hospital Isidro Ayora (Alcaciega y Navarrete, 2022).

Durante el embarazo, las mujeres tienen una frecuencia de colonización vaginal por especies de *Candida* que es al menos un 10% mayor que las mujeres en edad reproductiva. Esto las hace más susceptibles a desarrollar infecciones vaginales por este microorganismo. El principal factor predisponente identificado es el aumento de la concentración sanguínea de las hormonas reproductivas estrógeno y progesterona, las cuales provocan varios cambios en el organismo que facilitan el crecimiento e implantación de *Candida spp* en la vagina. Estos cambios incluyen la elevación del glucógeno en el tejido vaginal, la supresión de la respuesta inmunitaria mediada por células, la reducción de la cantidad de inmunoglobulinas en las secreciones vaginales y la debilitación del sistema inmunológico como consecuencia del estrés emocional (Disha y Haque, 2022).

La infección vaginal por *Candida* se asocia con un aumento de circunstancias adversas, como la rotura prematura de membranas, la corioamnionitis, el parto prematuro y el bajo peso al nacer (Disha y Haque, 2022). Se recomienda el tratamiento antimicótico profiláctico en las últimas semanas de gestación para prevenir la transmisión vertical durante el parto vaginal. La transmisión vertical puede resultar en consecuencias tales como la candidosis neonatal invasiva, las candidiasis orales y la dermatitis del pañal (Farr et al., 2021).

Es crucial evitar la automedicación y el uso inadecuado de antifúngicos, ya que puede aumentar la resistencia de las especies de *Candida* a estos medicamentos (Farr et al., 2021).

Específicamente, las especies *no albicans*, como *C. glabrata* y *C. krusei*, pueden ser menos sensibles a los antimicóticos, y se ha observado que algunos mecanismos de resistencia son más prevalentes en estas especies (Pristov y Ghannoum, 2019).

Los antimicóticos pueden ser menos efectivos contra las especies de *Candida* no *albicans*. Por ejemplo, *C. glabrata* puede ser hasta 32 veces menos sensible al fluconazol debido a la sobreexpresión de bombas de expulsión en comparación con *C. albicans* (Orellana y Pacheco, 2021). Además, *C. krusei* es intrínsecamente resistente al fluconazol (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2022) debido a la presencia de bombas de expulsión y baja afinidad de las enzimas de síntesis del ergosterol hacia el fármaco (Whaley et al., 2017).

Un estudio de Sánchez y González (2021) en el sector Motupe de Loja encontró que el 42,3% de las infecciones vaginales en gestantes fueron causadas por *Candida*, pero no se especificaron las especies ni los perfiles de susceptibilidad de las levaduras aisladas. Por lo tanto, surge la pregunta de cuáles son las especies y el perfil de susceptibilidad a los antifúngicos de las levaduras del género *Candida* aisladas de muestras de secreción vaginal de embarazadas que acuden al centro de salud universitario Motupe.

Este estudio es fundamental para mejorar el tratamiento de infecciones vaginales por *Candida* en mujeres embarazadas y prevenir la transmisión vertical, ya que la elección de un tratamiento adecuado según la especie y el perfil de susceptibilidad de *Candida* aislada puede disminuir la probabilidad de complicaciones en las pacientes. Además, es importante para prevenir la aparición y propagación de especies resistentes en la población estudiada y contribuir al conocimiento en este campo, especialmente a nivel local, donde la información disponible es limitada en la actualidad.

4 Marco teórico

4.1 La vagina y la flora vaginal

El aparato reproductor femenino está compuesto por la vagina, ovarios, trompas de Falopio y útero. La vagina es un conducto que se extiende desde el exterior del cuerpo hasta el cérvix y está situado entre la vejiga urinaria y el recto (Cotacachi, 2018). En su interior se encuentra la flora microbiana vaginal, una comunidad de microorganismos adquiridos desde el nacimiento que varía a lo largo de la vida. Esta flora se caracteriza por la predominancia de varias especies del género *Lactobacillus*, principalmente *L. crispatus*, *L. iners*, *L. gasseri* y *L. jensenii* (Chee et al., 2020).

La predominancia de *Lactobacillus* en la vagina cumple una función protectora gracias a la producción de varias sustancias antimicrobianas, entre las que se incluyen el ácido láctico, que se produce a partir de la fermentación de carbohidratos y mantiene un ambiente ácido local con un pH de $3,5 \pm 0,2$, lo que evita la colonización vaginal por organismos patógenos. Además, los *Lactobacillus* producen bacteriocinas, que actúan sobre la membrana celular de organismos no pertenecientes a la flora, aumentando su permeabilidad y previniendo su proliferación, y producen peróxido de hidrógeno, que es tóxico para los microorganismos patógenos (Kalia et al., 2020).

4.2 Secreción vaginal

El flujo vaginal normal es una combinación de secreciones vulvares provenientes de las glándulas sebáceas, sudoríparas, de Bartolino y de Skene, transudado del epitelio vaginal y células descamadas, moco cervical y células exfoliadas del cuello uterino, líquido proveniente del endometrio y de las trompas de Falopio, junto con microorganismos y sus metabolitos (Berek y Berek, 2013). Durante el embarazo, se producen cambios fisiológicos en la vagina, como un aumento de la vascularización y la irrigación, lo que da lugar a un flujo vaginal más blanco y espeso (Carvajal y Ralph, 2018).

4.3 Infección vaginal o vaginitis infecciosa

La colonización de microorganismos patógenos en la vagina ocurre generalmente cuando la flora vaginal pierde su función protectora, lo que facilita la multiplicación y diseminación de estos microorganismos. Los principales factores que causan la alteración de la flora vaginal incluyen el uso de productos químicos para la higiene, el uso inadecuado de antibióticos, la diabetes y las prácticas de higiene inadecuadas en la zona vaginal (Zambrano et al., 2018).

La vaginitis se puede identificar por síntomas y signos característicos, como secreción, olor, picazón, dolor e irritación en la zona vaginal, que varían dependiendo del agente

etiológico. Las infecciones vaginales son causadas en un 40-50% por bacterias anaerobias, como *Prevotella*, *Mobiluncus*, *Gardenerella vaginalis*, *Ureaplasma* y *Mycoplasma*; en un 20-25% por hongos del género *Candida*, y en un 15-20% por *Trichomonas vaginalis*. Las variantes de vaginitis no infecciosas, causadas por factores como la deficiencia de estrógenos, reacciones alérgicas o procesos autoinmunes, representan solo el 5-10% de los casos (Paladine y Desai, 2018).

4.4 Los hongos del género *Candida*

Los hongos del género *Candida* son parte de la microbiota de la piel, mucosas y tubo digestivo. En cultivos in vitro o tejidos, tienen una forma de levaduras ovoides de entre 3 a 6 µm de diámetro y en medios de agar producen colonias blandas de color crema. De las 200 especies identificadas, las de mayor importancia clínica son *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei*, *Candida parapsilosis*, *Candida glabrata*, *Candida guilliermondii* y *Candida dubliniensis* (Riedel et al., 2020).

Los hongos pueden adoptar la forma de levaduras y pseudohifas, con excepción de *C. glabrata* que solo produce células de levadura. En cambio, *C. albicans* es dimórfica, ya que además de las formas mencionadas, es capaz de producir tubos germinales o hifas verdaderas después de incubarse en suero durante 60 a 90 minutos a 37°C (Riedel et al., 2020).

4.5 Candidosis vulvovaginal (CVV)

Las infecciones por candidosis superficiales son causadas por un aumento local de levaduras que alteran la piel o el epitelio, lo que conduce a la invasión local y a la respuesta inflamatoria del huésped (Riedel et al., 2020). La candidosis vulvovaginal (CVV) es una infección superficial que afecta el tracto reproductivo inferior de la mujer y es causada por el crecimiento excesivo de los hongos del género *Candida*, lo que resulta en la invasión del epitelio vaginal y produce inflamación de la mucosa (Willems et al., 2020). *C. albicans* se presenta en forma de blastoconidias en casos de colonización asintomática, mientras que la formación de hifas resulta en una colonización más efectiva y una invasión tisular. Para que se presenten síntomas, se requiere una concentración de al menos 10⁴/ml de microorganismos (Berek y Berek, 2013).

Los síntomas de la CVV difieren de otras vaginitis debido a la presencia de una secreción vaginal inodora, blanca y espesa con un pH normalmente ácido (menor a 4.5), acompañada de picazón o ardor vulvar, así como eritema y edema en los labios y la vulva (Paladine y Desai, 2018). *C. albicans* es el agente etiológico más común, identificado en más del 90% de los casos de CVV. Entre las especies de *Candida no albicans* que causan la CVV, *C. glabrata* es la más común (~8%), seguida de *C. krusei*, *C. parapsilosis* y *C. tropicalis*

(Willems et al., 2020). Es importante tener en cuenta la presencia del complejo *Candida albicans*, que está compuesto por las especies *C. albicans*, *C. dubliniensis* y *C. africana*, las cuales tienen similitudes fenotípicas y se pueden diferenciar mediante métodos de biología molecular, como la identificación del polimorfismo del gen *HWPI* (Salehipour et al., 2021).

4.5.1 Clasificación de la CVV

La CVV se clasifica en dos tipos: no complicada y complicada. Se considera no complicada cuando la infección aparece de forma infrecuente u ocasional, y se presentan síntomas leves a moderados en pacientes inmunocompetentes, posiblemente causados por *C. albicans*. Por otro lado, se considera complicada cuando los síntomas se presentan de forma recurrente (4 o más episodios en un año) y son graves, y generalmente aparece en pacientes inmunodeprimidas, siendo causada por *Candida no albicans* (Berek y Berek, 2013).

4.6 Epidemiología de la CVV

Se estima que al menos el 75% de las mujeres sexualmente activas experimentarán al menos una vez en su vida la CVV. De estas, del 85% al 95% están causadas por *Candida albicans* y afectan con mayor frecuencia a mujeres de entre 15 y 45 años, mientras que *C. glabrata* se aísla con más frecuencia en pacientes diabéticas (Orellana y Pacheco, 2021). En aproximadamente el 25% de las secreciones vaginales de mujeres saludables y no embarazadas es posible aislar *Candida spp.* En los Estados Unidos, se reportan anualmente 10 millones de casos de CVV (Pineda et al., 2017), mientras que, en Ecuador, la CVV representa más de un tercio de las visitas al ginecólogo (Orellana y Pacheco, 2021).

La frecuencia de colonización vaginal por especies de *Candida* en mujeres embarazadas es de al menos el 30%, en comparación con el 20% en mujeres no gestantes, lo que aumenta la probabilidad de infecciones vaginales asintomáticas y CVV, especialmente en el tercer trimestre de gestación (Disha y Haque, 2022).

4.6.1 Factores de riesgo en embarazadas para contraer CVV

Durante el embarazo, el aumento de los niveles de estrógeno en la sangre produce cambios en el huésped, incluyendo una mayor producción de glucógeno en la mucosa vaginal y una disminución de los niveles de inmunoglobulinas en las secreciones vaginales, creando un entorno que facilita el crecimiento excesivo de *C. albicans* en las paredes vaginales. Además, estas hormonas estimulan un aumento de la virulencia de los hongos a través de la inducción de la formación de pseudohifas y la capacidad de evasión del sistema inmunitario innato, presentando resistencia a la fagocitosis de los macrófagos y una inhibición de la cascada del sistema del complemento alternativo, lo que se debe a la incorporación de la proteína Factor H

a la superficie microbiana, mediada por una proteína de superficie celular fúngica denominada Gpd2, que se sintetiza por la presencia de estrógenos (Kumwenda et al., 2022).

Existen otros factores de riesgo para el desarrollo de CVV durante el embarazo, incluyendo la debilitación del sistema inmunológico debido al estrés emocional asociado con el embarazo, el aumento de la progesterona, que disminuye la efectividad de los neutrófilos para inhibir estos hongos y la supresión de la inmunidad mediada por células debido a un desequilibrio de las respuestas entre los linfocitos Th1 y Th2, y la hiperglucemia, como la gestacional, que aumenta las concentraciones de glucosa en las secreciones vaginales y facilita el desarrollo y la adherencia de *Candida* a las células epiteliales (Disha y Haque, 2022).

4.6.2 Posibles complicaciones de la colonización asintomática y la CVV durante el embarazo

Se ha descrito una relación entre la colonización vaginal asintomática no tratada por *Candida* spp. en mujeres gestantes y el aumento de la frecuencia de partos prematuros espontáneos. La alta incidencia de esta colonización es preocupante ya que existe la posibilidad de que se produzca una candidosis neonatal invasiva por transmisión vertical. En pacientes en los que se ha establecido la colonización vaginal por *Candida* spp. durante el embarazo, se ha observado un incremento en circunstancias adversas como la rotura prematura de membranas, la corioamnionitis, el parto prematuro y el bajo peso al nacer (Disha y Haque, 2022).

Los lactantes considerablemente prematuros y los neonatos con bajo peso al nacer se consideran pacientes de alto riesgo para padecer infecciones por *Candida* (Chen et al., 2022). Las condiciones predisponentes más importantes en esta población son: pesar menos de 1 kg, tener una edad gestacional menor a 28 semanas, el uso materno de antibióticos (cefalosporinas y carbapenémicos) o medicamentos que alteran el sistema inmune y una prueba de APGAR con un puntaje menor de 5 a los 5 minutos de nacer. Cuando se presentan infecciones sistémicas por *Candida* en neonatos, la mortalidad es alta. Se establece que aquellos que pesan 750 gramos o más tienen una probabilidad de morir del 40%, mientras que la mortalidad se reduce al 20% para los que pesan entre 1 y 1.5 kg (Arias y Jiménez, 2015).

Para evitar estas complicaciones en el neonato, se recomienda el tratamiento profiláctico en las últimas 6 semanas de embarazo con azoles como el fluconazol (Farr et al., 2021). Ya que se ha demostrado la efectividad de estos fármacos al proteger contra infecciones por *Candida* en esta población (Lona et al., 2022).

4.7 Pruebas de laboratorio para la identificación de *Candida* en la secreción vaginal

El método de laboratorio más común utilizado para identificar *Candida* en secreción vaginal es la microscopía directa mediante la preparación de montajes de hidróxido de potasio

(KOH) al 10%. Sin embargo, debido a su alta tasa de falsos negativos, que puede llegar a ser del 15%, este estudio se omite en algunos casos (Bao et al., 2018). Además, si la exploración física y el examen microscópico no indican la presencia de elementos fúngicos, es poco probable que exista una colonización vaginal por *Candida*. No obstante, es posible que los resultados del cultivo vaginal para hongos sean positivos (Berek y Berek, 2013).

Después de obtener y transportar la muestra, se procede a cultivarla en agares para el crecimiento y aislamiento fúngico. El agar Sabouraud es óptimo para este propósito, ya que su pH (5.4-5.8) inhibe el crecimiento de bacterias, pero favorece el de hongos al contener los nutrientes necesarios, como glucosa, peptona micológica y agar. Este agar se incuba a 35°C durante 24 a 48 horas para el crecimiento de levaduras (HiMEDIA Laboratories, 2018).

En caso de haber crecimiento en agar Sabouraud, se utilizan medios con sustratos cromógenos como el CHROMagar para identificar de manera rápida las especies de *Candida* a través de la observación directa del color de las colonias formadas luego de 24 a 48 horas en el agar. Las colonias de *C. albicans* son verdes, *C. tropicalis* azul metálico, *C. krusei* rosa, rizadas, *C. kefyr*, *C. glabrata* de malva a marrón, y otras especies de blanco a malva, sin embargo, los colores y características de las colonias pueden variar entre marcas de este tipo de agares. Estos medios generalmente están compuestos por agar, peptona, mezcla cromogénica y cloranfenicol (CHROMagar, 2022). A través de este método, la identificación de ciertas especies de *Candida* se produce por la reacción de la mezcla cromogénica con la respectiva beta-glucosidasa de las levaduras, lo que da lugar a la aparición de un cierto color (Rio et al., 2019).

Por último, se puede realizar un antifungigrama mediante la prueba de difusión en disco para determinar el perfil de susceptibilidad a antimicóticos para un óptimo tratamiento, se utiliza el agar Müller-Hinton suplementado con 2% de glucosa y 0.5 µg/mL de azul de metileno, la adición de glucosa proporciona un medio más adecuado para el crecimiento de hongos, mientras que la adición del azul de metileno facilita la observación de los halos de inhibición que aparecen luego de la incubación a 35°C por 24 a 48 horas, el agar debe tener un pH de 7.2 a 7.4 luego de gelificarse (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2022). Métodos de biología molecular y serología se recomiendan solo cuando se presenta una candidosis sistémica (Riedel et al., 2020).

4.8 Antimicóticos – azólicos

La familia de medicamentos antimicóticos conocida como azoles es ampliamente utilizada en el tratamiento de infecciones por *Candida*. Estos fármacos actúan sobre la enzima lanosterol 14- α -esterol desmetilasa, que es esencial para la síntesis del ergosterol, el

componente principal de la membrana celular del hongo. Al inhibir esta enzima, los azoles alteran la membrana celular del hongo y previenen su crecimiento (Pristov y Ghannoum, 2019).

Los azoles se dividen en dos subclases: los imidazoles, que incluyen fármacos como el miconazol, econazol, clotrimazol y ketoconazol, y los triazoles, que incluyen el fluconazol, itraconazol, voriconazol y posaconazol (Pristov y Ghannoum, 2019). En el presente estudio, se utilizaron el fluconazol y voriconazol en los antifungigramas.

4.8.1 Resistencia de las levaduras del género *Candida* a los azoles

La administración prolongada y generalizada de medicamentos como los azoles puede ocasionar un aumento en la resistencia de *Candida*, entendiendo esta como la incapacidad de erradicar la infección a pesar del tratamiento del paciente, lo que permite que los hongos persistan en presencia del antimicótico (Pristov y Ghannoum, 2019).

Las especies de *Candida* pueden adquirir resistencia a los azoles por diversos mecanismos, tales como la formación de biopelículas que les proporciona una estructura tridimensional de refugio y les permite resistir altas concentraciones del fármaco, la sobreexpresión de bombas de expulsión multifármaco en la pared celular del hongo que impiden que el fármaco alcance concentraciones adecuadas dentro del microorganismo, la alteración del gen ERG11 que codifica la enzima diana para los azoles, disminuyendo su afinidad e impidiendo su unión, y la presencia de mutaciones que generan vías alternativas de síntesis de membranas que no son afectadas por estos fármacos (Pristov y Ghannoum, 2019).

5 Metodología

5.1 Tipo de estudio

El estudio fue de diseño cuantitativo, de tipo no experimental, de corte transversal descriptivo.

5.2 Área de estudio

La toma de muestras se llevó a cabo en el Centro de Salud Universitario de Motupe localizado en el norte de la ciudad de Loja a 7 km de su centro en el barrio Motupe Bajo perteneciente a la Parroquia San Juan del Valle. Posteriormente, las muestras se transportaron para su procesamiento al Laboratorio de Microbiología de la Facultad de la Salud Humana (FSH) de la Universidad Nacional de Loja ubicado en la ciudad del mismo nombre a un lado de la calle Manuel Monteros.

5.3 Universo

El universo de estudio estuvo conformado por mujeres embarazadas que vivían en el área de influencia del Centro de Salud Universitario de Motupe (10 km²).

5.4 Muestra

La muestra estuvo conformada por pacientes embarazadas que acudieron a consulta ginecológica en el Centro de Salud Universitario de Motupe, y que, por pedido médico se les realizó un análisis de secreción vaginal.

5.5 Criterios de inclusión

- Pacientes en periodo de gestación.
- Pacientes que hayan aceptado el consentimiento informado
- Pacientes con solicitud de análisis de secreción vaginal.

5.6 Criterios de exclusión

- Pacientes con tratamiento antifúngico.
- No cumplir con las indicaciones previas de toma de muestra.

5.7 Equipos y materiales

5.7.1 Fase pre analítica

- Oficio de estructura, coherencia y pertinencia para ejecutar la investigación (ANEXO 1).
- Oficio de permiso para el procesamiento de muestras en el Laboratorio de Parasitología y Microbiología de la Facultad de la Salud Humana (ANEXO 2).
- Consentimiento informado (ANEXO 3).
- Hoja de recolección de datos (ANEXO 4).

- Protocolo para la preparación del paciente, toma de muestra, conservación y transporte de secreción vaginal (ANEXO 5).
- Protocolo de preparación y almacenamiento de agar Sabouraud (ANEXO 6).
- Protocolo de preparación y almacenamiento de agar Mueller-Hinton suplementado con glucosa y azul de metileno (ANEXO 7).
- Protocolo de preparación y almacenamiento de CHROMagar *Candida* (ANEXO 8).
- Hoja de registro de temperatura de la incubadora (ANEXO 9).
- Protocolo de control de calidad del antifungigrama mediante el uso de la cepa control *Candida albicans* ATCC 90028 (ANEXO 10).

5.7.2 Fase analítica

- Protocolo de la técnica de siembra e incubación de las muestras de secreción vaginal en agar Sabouraud (ANEXO 11).
- Protocolo de siembra y antifungigrama en agar Mueller-Hinton suplementado con glucosa y azul de metileno (ANEXO 12).
- Protocolo de siembra de levaduras en CHROMagar *Candida*, incubación e identificación de la especie (ANEXO 13).

5.7.3 Fase post analítica

La información resultado del procesamiento de las muestras en el laboratorio fue tabulada y analizada utilizando los programas Jamovi y Rstudio.

- Hoja de trabajo de microbiología (ANEXO 14).
- Formato de reporte de resultados (ANEXO 15).
- Protocolo eliminación de desechos (medios de cultivo) (ANEXO 16).
- Proceso de entrega de resultados al Centro de Salud Universitario de Motupe (ANEXO 17).
- Evidencias fotográficas (ANEXO 18).
- Certificado de inglés (ANEXO 19).

5.8 Instrumentos de recolección de datos

Para la recolección de los datos se utilizaron bitácoras con un formato definido (ANEXO 4) donde consta la fecha de toma de muestra, nombres y apellidos del paciente, edad, periodo de gestación en semanas, cédula, número de contacto y código.

5.9 Presentación de datos

Se utilizaron estadísticas descriptivas para resumir las variables analizadas. Para la realización de las tablas de frecuencias y figuras, se utilizaron los softwares estadísticos de acceso libre JAMOVI y Rstudio.

5.10 Fuentes de información

Las fuentes de información para el presente estudio fueron los pedidos de laboratorio en donde constó información del paciente importante para el desarrollo de la investigación, incluyendo: nombres y apellidos, edad, periodo de gestación, cédula y número de contacto; estos datos se registraron en las respectivas hojas de recolección de datos (ANEXO 4).

5.11 Consideraciones legales y éticas

Con el fin de cumplir con las consideraciones éticas que supuso la elaboración del presente estudio debido al análisis de muestras biológicas humanas y al uso de documentación que contiene información confidencial, se aplicaron las siguientes medidas: no se trabajó con muestras de pacientes que no hayan aceptado la participación voluntaria a través del consentimiento informado, y no se divulgó información sensible contenida en los instrumentos de recolección de datos y reportes de laboratorio (por ejemplo: nombres del paciente, su residencia, número de identificación, contacto, número de historia clínica, etc.).

6 Resultados

Para cumplir con los objetivos establecidos, se procesaron 64 muestras de secreción vaginal de pacientes embarazadas que asistieron al Centro de Salud Universitario de Motupe. Todas las muestras se cultivaron en agar Sabouraud dextrosa y se incubaron a 35°C por hasta 42 horas con el objetivo de aislar colonias de levaduras del género *Candida*. Se obtuvieron crecimientos positivos en el 22% (n=14) de las muestras.

Con el fin de cumplir con el primer objetivo específico, que se refiere a la identificación de especies, se procedió a hacer el pase de las colonias de *Candida* spp. aisladas en el medio de cultivo Sabouraud dextrosa al agar cromogénico CHROMagar-*Candida*. En el 93% (n=13) de los casos, se observaron colonias de color verde compatibles con el complejo *Candida albicans*, mientras que en el 7% (n=1) de los casos, se identificaron colonias de color rosado compatibles con *Candida krusei*. En la Tabla 1 y la Figura 2 se presentan las frecuencias de las especies identificadas.

Tabla 1

Especies identificadas mediante CHROMagar-Candida aisladas de muestras de secreción vaginal durante el periodo octubre 2022 – marzo 2023.

Especie	Frecuencia	Porcentaje (%)
Complejo <i>Candida albicans</i>	13	93
<i>Candida krusei</i>	1	7
Total	14	100

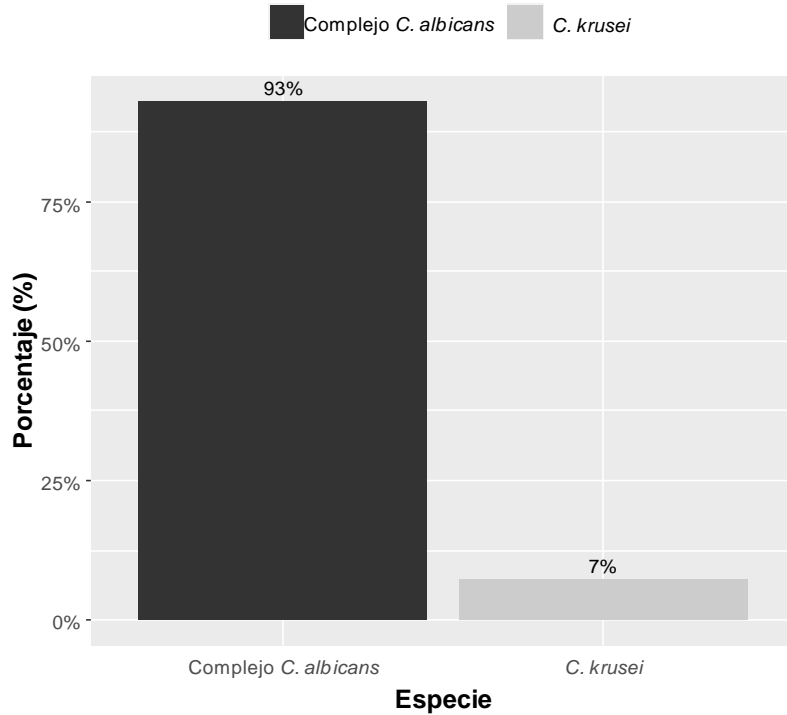


Figura 1. Especies identificadas mediante CHROMagar-Candida aisladas de muestras de secreción vaginal durante el periodo octubre 2022 – marzo 2023.

Para cumplir con el segundo objetivo de medir el perfil de susceptibilidad a antifúngicos, se utilizaron las colonias de *Candida* spp. aisladas en agar Sabouraud dextrosa. La técnica de disco difusión se realizó en el medio de cultivo Müller Hinton suplementado con glucosa y azul de metileno, utilizando discos cargados con antifúngicos, específicamente fluconazol y voriconazol. La interpretación se llevó a cabo después de una incubación a 35°C por 24 horas, o 48 horas en caso de crecimiento insuficiente. Todos los aislamientos del complejo *C. albicans* fueron sensibles al fluconazol, sin embargo, el 8% (n=1) resultó resistente al voriconazol. El aislado de *C. krusei* fue resistente al fluconazol, pero sensible al voriconazol, se debe tener en cuenta que esta última especie presenta resistencia intrínseca al fluconazol. Se presentan los resultados resumidos en la Tabla 2 y la Figura 2.

Tabla 2

Susceptibilidad a antifúngicos de las especies de *Candida* aisladas de muestras de secreción vaginal durante el periodo octubre 2022 – marzo 2023.

Antifúngicos	Especies de <i>Candida</i>	Susceptibilidad		Total % (n)
		Sensible % (n)	Resistente % (n)	
Fluconazol	Complejo <i>C. albicans</i>	100 (13)	0 (0)	100 (13)
	<i>C. krusei</i>	0 (0)	1 (100) ^a	100 (1)
Voriconazol	Complejo <i>C. albicans</i>	92 (12)	8 (1)	100 (13)
	<i>C. krusei</i>	100 (1)	0 (0)	100 (1)

Nota ^a. *C. krusei* es intrínsecamente resistente al fluconazol.

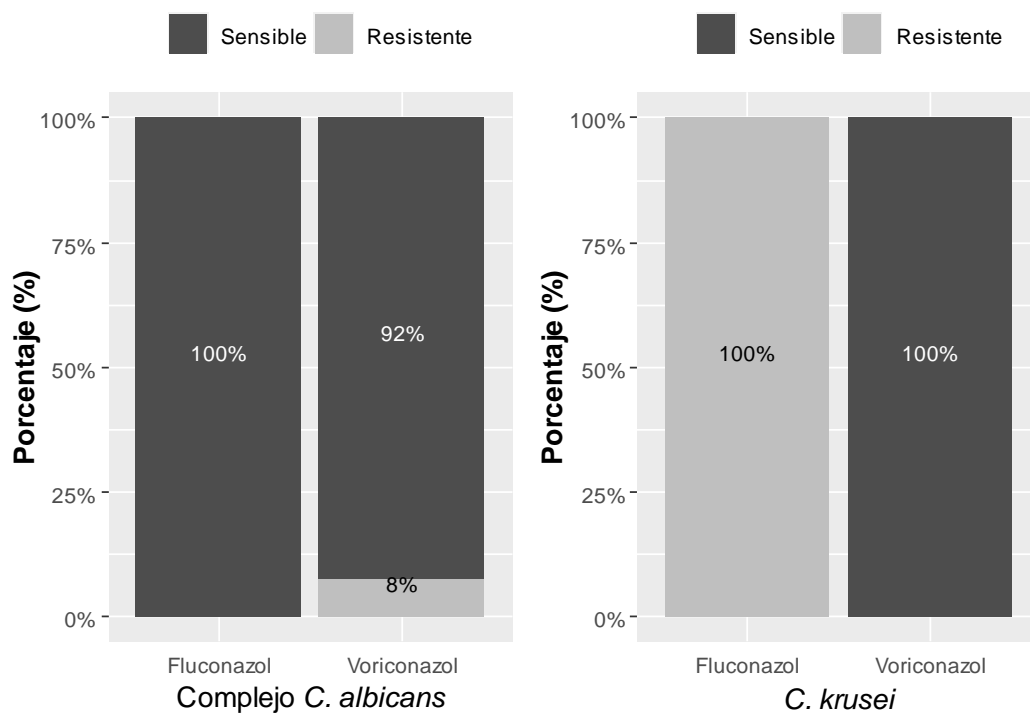


Figura 2. Susceptibilidad a antifúngicos de las especies de *Candida* aisladas de muestras de secreción vaginal durante el periodo octubre 2022 – marzo 2023.

7 Discusión

La candidiasis vulvovaginal (CVV) es una de las infecciones vaginales más comunes. Se estima que al menos un 75% de las mujeres en edad fértil padecerán esta infección. Además, el embarazo es uno de los principales factores de riesgo para adquirir la infección debido al aumento de hormonas reproductivas que desencadenan cambios fisiológicos que facilitan el crecimiento e invasión de *Candida* spp. en el epitelio de la pared vaginal.

En el presente estudio se analizaron 64 muestras de secreción vaginal de pacientes embarazadas que acudieron al Centro de Salud Universitario de Motupe en el período octubre 2022 - marzo 2023, con el objetivo de determinar la frecuencia de las especies de *Candida* y su susceptibilidad a los antifúngicos fluconazol y voriconazol.

Se observó el crecimiento de colonias verdes compatibles con el complejo *Candida albicans* en el 93% (n=13) de los 14 aislados, y en el 7% (n=1) se encontraron colonias rosadas claras compatibles con *Candida krusei*. Estos resultados son similares a los obtenidos en un estudio anterior realizado por Aguilar et al. (2017) en Asunción, Paraguay, donde se analizaron 522 muestras de secreción vaginal de mujeres embarazadas de las cuales se obtuvo 536 aislados de *Candida*, de estos el complejo *C. albicans* se identificó en el 86,4% (n=463) de los casos, mientras que el 13,6% (n=73) correspondió a especies *no albicans*, incluyendo *C. krusei* que conformó el 1,7% (n=9) de los aislados. Otro estudio realizado por Mucci et al. (2017) en Buenos Aires, Argentina, encontró que de 65 aislados de *Candida* de muestras de secreción vaginal de pacientes embarazadas, el 87,7% (n=57) pertenecían al complejo *C. albicans*, mientras que el 12,3% (n=8) eran especies *no albicans* sin presencia de *C. krusei*. Además, se puede contrastar con los resultados del estudio de Chila et al. (2022) en Manabí, Ecuador, en el que se analizaron 52 muestras de secreción vaginal de pacientes embarazadas y se identificó el complejo *C. albicans* en el 80,8% (n=42) de los casos, mientras que el 19,2% (n=10) de los casos fue de especies *no albicans*, incluyendo *C. krusei* que conformó el 1,92% (n=1) de estos. Finalmente, el estudio de Brandão et al. (2018) en Natal, Brasil, de 20 aislados de especies de *Candida* de secreción vaginal de pacientes embarazadas, encontró que el complejo *C. albicans* se identificó en el 95% (n=19) de los casos, y un único aislado de *C. glabrata* conformó el 5% (n=1).

Los resultados obtenidos por los diferentes autores corroboran que las especies del complejo *C. albicans* son las más comunes en las secreciones vaginales de mujeres embarazadas, mientras que otras especies *no albicans*, como *C. krusei*, se presentan con menor frecuencia. La explicación para esta mayor prevalencia de *C. albicans* podría ser la presencia de mecanismos de virulencia robustos, relacionados con el gen *HWPI*, que modula el

ensamblaje de la pared celular, la señalización intracelular y la transición morfológica de las blastosporas a pseudohifas e hifas, promoviendo la unión de estos microorganismos a las células epiteliales mediante el aumento de la expresión de adhesinas. Además, estos mecanismos también favorecen la formación de biopelículas al producir una matriz de polisacáridos extracelulares (Nouraei et al., 2020).

En contraste, en un estudio realizado en Ghana por Waikhom, et al. (2020), se identificó que el complejo *C. albicans* solo ocupó el 25,9% de los 54 aislados de secreción vaginal de mujeres embarazadas. Del mismo modo, Sangaré, et al. (2018) en Burkina Faso indicaron un porcentaje reducido de aislamientos del complejo *C. albicans*, abarcando solo el 40,4% de 52 aislamientos. Waikhom, et al. (2020) sugiere que el aumento de la frecuencia de especies *no albicans* en una población puede deberse a la automedicación y a una terapia antifúngica prolongada, lo que puede ocasionar la selección de las especies *no albicans* debido a su mayor resistencia a los agentes antifúngicos en comparación con las especies del complejo *C. albicans*.

En este estudio, se evaluó la susceptibilidad a antifúngicos y se encontró que todos los aislados del complejo *C. albicans* fueron sensibles al fluconazol, mientras que el aislado de *C. krusei* fue resistente debido a su resistencia intrínseca. Estos hallazgos coinciden con estudios previos, como el realizado por Suárez et al. en Cartagena de Indias-Colombia en 2018, que informó una sensibilidad del 100% al fluconazol en los aislados del complejo *C. albicans* y una resistencia del 100% en los aislados de *C. krusei*. Además, el estudio de Espinoza et al. realizado en Venezuela en 2016 utilizando el método de disco difusión informó que todos los aislados de *C. albicans* fueron sensibles al fluconazol, y todos los aislados de *C. krusei* fueron resistentes, lo que es consistente con los resultados actuales.

En cuanto a la susceptibilidad al voriconazol, en este estudio se encontró que el 92% de los aislados del complejo *C. albicans* fueron sensibles, mientras que el 8% fueron resistentes, y el aislado de *C. krusei* fue sensible. Estos hallazgos son similares a los obtenidos en el estudio de Perurena, et al. (2016) realizado en La Habana, Cuba, donde el 93,7 % de los aislados del complejo *C. albicans* y el 100% de *C. krusei* fueron sensibles al voriconazol, utilizando el método de dilución en caldo para determinar la susceptibilidad. Los resultados también concuerdan con los de Ghaddar, et al. (2020), un estudio realizado en Beirut, Líbano, que mostró que el 97,5% de los aislados del complejo *C. albicans* fueron sensibles al voriconazol y el 2,5% resistentes, utilizando el método de E-test basado en agar. Por lo tanto, se puede observar que los resultados obtenidos en la presente investigación se corroboran con otros estudios que indican una alta sensibilidad al voriconazol en el complejo *C. albicans* y *C. krusei*.

Sin embargo, un estudio realizado por Waikhom, et al. (2020) en Ghana, que evaluó la susceptibilidad al fluconazol y voriconazol de 14 aislados del complejo *C. albicans*, mostró que el 21,4% eran sensibles al fluconazol, el 28,6% eran susceptibles a dosis dependientes (SDD) y el 50% eran resistentes. En cuanto al voriconazol, el 42,9% eran sensibles, el 7,1% eran SDD y el 50% eran resistentes, además *C. krusei* hacia este último fármaco fue 33,3% sensible, 50,0% SDD y 16,7% resistente. Según el mismo autor, la alta resistencia en su estudio puede deberse al tratamiento empírico con estos fármacos, lo que induce la expresión de mecanismos de resistencia en estas especies, como la formación de biopelículas, que proporcionan refugio y la oportunidad de resistir altas concentraciones de antifúngicos, y la expresión de bombas de expulsión multifármaco en la célula, que evitan la acumulación de concentraciones tóxicas en el interior del microorganismo (Pristov & Ghannoum, 2019).

8 Conclusiones

- Se pudo identificar que las especies pertenecientes al Complejo *Candida albicans* son las más prevalentes dentro de la población estudiada, abarcando un 93% de los aislamientos, seguidas por *C. krusei* con un 7%.
- Se encontró que todos los aislamientos de las especies del Complejo *C. albicans* fueron sensibles al fluconazol; sin embargo, el 8% de ellos mostró resistencia al voriconazol. Por otro lado, el aislamiento de *C. krusei*, como se esperaba, fue resistente al fluconazol, pero sensible al voriconazol.

9 Recomendaciones

- Se recomienda el uso de métodos de biología molecular, como PCR múltiple y la electroforesis en gel de agarosa con cepas control, para la identificación de las especies de *Candida* spp. Estos métodos permiten superar las limitaciones de identificación asociadas al uso de agar cromogénico.
- Se recomienda identificar las especies pertenecientes al Complejo *C. albicans* mediante la detección de los polimorfismos del gen HWP1 para poder determinar la frecuencia y susceptibilidad a los antifúngicos de manera individual para *C. albicans*, *C. dubliniensis* y *C. africana* en la población local.
- Se recomienda continuar con estudios de identificación de especies y evaluación del perfil de susceptibilidad a antifúngicos para prevenir la automedicación y, por consiguiente, reducir la frecuencia de especies *no albicans* y la emergencia de cepas resistentes.

10 Bibliografía

- Aguilar, G., Araujo, P., Godoy, E., Falcón, M., Centurión, M., Ortiz, R., Brites, M., & Martínez, M. (2017). Identification and characteristics of *Candida* spp . in vaginal secretion of pregnant and non-pregnant patients. *Memorias Del Instituto de Investigaciones En Ciencias de La Salud*, 15(3), 6–12. [https://doi.org/10.18004/mem.iics/1812-9528/2017.015\(03\)06-012](https://doi.org/10.18004/mem.iics/1812-9528/2017.015(03)06-012)
- Alcaciega, A., & Navarrete, R. (2022). Vulvovaginitis candidiásica en el embarazo: enfoque diagnóstico, tratamiento actual y complicaciones. *Ciencia Ecuador*, 4(4). <https://cienciaecuador.com.ec/index.php/ojs/article/view/101>
- Alegre, J., & Ruiz, A. (2018). *Plan de gestión de residuos*. Consejo Superior de Investigaciones Científicas del IRNAS. bit.ly/413XBYY
- Arias, D., & Jiménez, J. (2015). Manejo de la infección por *Candida* en el recién nacido. *Repert.Med.Cir*, 24(2), 123–130. <https://doi.org/https://doi.org/10.31260/RepertMedCir.v24.n2.2015.633>
- Aroca, J., Martínez, P., Esteban, L., González, A., García, I., & Menchero, S. (2020). Epidemiology and etiology of vulvovaginal candidiasis in spanish and immigrants' women in Fuenlabrada (Madrid). *Revista Española de Quimioterapia*, 33(3), 187–192. <https://doi.org/10.37201/req/099.2019>
- Bao, F., Fan, Y., Sun, L., Yu, Y., Wang, Z., Pan, Q., Yu, C., Liu, H., & Zhang, F. (2018). Comparison of fungal fluorescent staining and ITS rDNA PCR-based sequencing with conventional methods for the diagnosis of onychomycosis. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 32(6), 1017–1021. <https://doi.org/10.1111/jdv.14843>
- Berek, J., & Berek, D. (2013). *Ginecología de Berek y Novak* (D. González & J. López, Eds.; 15th ed.). Wolters Kluwer Health.
- Brandão, L., Boniek, D., Resende, M., da Mata, F., de Azevedo, P., Fernandes, J., & Andrade, V. (2018). Prevalence and antifungal susceptibility of *Candida* species among pregnant women attending a school maternity at Natal, Brazil. *Letters in Applied Microbiology*, 67(3), 285–291. <https://doi.org/10.1111/lam.13034>
- Castro, D., Flores, P., Sánchez, K., Sepúlveda, M., & Gutiérrez, M. (2020). *Protocolo procedimientos relacionados con el proceso de toma de muestra y su traslado* (6th ed.). bit.ly/3jY7oiB

- Chee, W., Chew, S., & Than, L. (2020). Vaginal microbiota and the potential of Lactobacillus derivatives in maintaining vaginal health. *Microbial Cell Factories*, 19(1). <https://doi.org/10.1186/s12934-020-01464-4>
- Chen, W., Chen, P., Yang, S., Yen, T., Lu, C., Chen, J., Lee, P., Chang, L., Chen, Y., & Huang, L. (2022). Comparisons of the clinical and mycological characteristics of pediatric candidemia. *Journal of the Formosan Medical Association*, 121(9), 1668–1679. <https://doi.org/10.1016/j.jfma.2021.11.009>
- Chila, L., Anzules, J., Milian, E., & Bordelois, M. (2022). Perfil clínico-microbiológico de la Candidiasis Vulvovaginal en mujeres embarazadas. *Revista Científica Higía De La Salud*, 6(1). <https://doi.org/https://doi.org/10.37117/higia.v6i1.651>
- CHROMagar. (2022). *CHROMagar Candida. Instructions For Use*. bit.ly/3Eh6pRw
- Clinical and Laboratory Standards Institute. (2022). *M27M44S Performance Standards for Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts* (3rd ed.).
- Clinical and Laboratory Standards Institute. (2018). *M44 Method for Antifungal Disk Diffusion Susceptibility Testing of Yeasts* (3rd ed., Vol. 38). CLSI.
- Contreras, F. (2019). *Entrega de resultados de laboratorio clínico*. Hospital de la Vega. bit.ly/3XBou3A
- Cotacachi, D. (2018). *Tipificación de Candida en muestras de secreción vaginal de mujeres en edad fértil que acuden al Centro de Salud N° 1 de la ciudad de Loja* [Universidad Nacional de Loja]. <https://dspace.unl.edu.ec/jspui/handle/123456789/21565>
- Disha, T., & Haque, F. (2022). Prevalence and Risk Factors of Vulvovaginal Candidosis during Pregnancy: A Review. *Infectious Diseases in Obstetrics and Gynecology*, 2022, 1–14. <https://doi.org/10.1155/2022/6195712>
- Espinoza, D., Jiménez, O., & Maniscalchi, M. (2016). Candida spp. aisladas en pacientes con vulvovaginitis de comunidades rurales del municipio Caripe, Estado Monagas, Venezuela, 2014. *Revista Saber*, 28(4), 720–725. <https://bit.ly/3IBNsdI>
- Farr, A., Effendy, I., Frey, B., Hof, H., Mayser, P., Petricevic, L., Ruhnke, M., Schaller, M., Schaefer, A., Sustr, V., Willinger, B., & Mendling, W. (2021). Guideline: Vulvovaginal candidosis (AWMF 015/072, level S2k). *Mycoses*, 64(6), 583–602. <https://doi.org/10.1111/myc.13248>
- Galán, J., Lepe, J., Otero, L., Serra, J., & Vázquez, F. (2018). *Diagnóstico microbiológico de las infecciones de transmisión sexual y otras infecciones genitales*. Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). bit.ly/3IvS8CU

- Ghaddar, N., Anastasiadis, E., Halimeh, R., Ghaddar, A., Dhar, R., Alfouzan, W., Yusef, H., & el Chaar, M. (2020). Prevalence and antifungal susceptibility of *Candida albicans* causing vaginal discharge among pregnant women in Lebanon. *BMC Infectious Diseases*, 20(1). <https://doi.org/10.1186/s12879-019-4736-2>
- HiMEDIA Laboratories. (2018). *Sabouraud Dextrose Agar*. www.himedialabs.com
- Kalia, N., Singh, J., & Kaur, M. (2020). Microbiota in vaginal health and pathogenesis of recurrent vulvovaginal infections: A critical review. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 19(1). <https://doi.org/10.1186/s12941-020-0347-4>
- Kumwenda, P., Cottier, F., Hendry, A. C., Kneafsey, D., Keevan, B., Gallagher, H., Tsai, H. J., & Hall, R. A. (2022). Estrogen promotes innate immune evasion of *Candida albicans* through inactivation of the alternative complement system. *Cell Reports*, 38(1). <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2021.110183>
- Laboratorios Britania. (2021). *Mueller Hinton Agar*. https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_6070756160103.pdf
- Lona, J., Gómez, L., Cordero, A., Cortés, S. I., Quiles, M., Pérez, R. O., & Pinto, H. (2022). Incidence and factors associated with invasive candidiasis in a neonatal intensive care unit in Mexico. *Anales de Pediatría*, 97(2), 79–86. <https://doi.org/10.1016/j.anpedi.2021.07.001>
- Mucci, M., Cuestas, M., Landanburu, M., & Mujica, M. (2017). Prevalence of *Candida albicans*, *Candida dubliniensis* and *Candida africana* in pregnant women suffering from vulvovaginal candidiasis in Argentina. *Revista Iberoamericana de Micología*, 34(2), 72–76. <https://doi.org/10.1016/j.riam.2016.09.001>
- Nouraei, H., Sheykhi, S., Zareshahabadi, Z., Khodadadi, H., Zomorodian, K., & Pakshir, K. (2020). Comparative Analysis of Virulence Factors of Homozygous and Heterozygous Strains of *Candida albicans* Vaginal Isolates. *International Journal of Microbiology*, 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/8889224>
- Orellana, J., & Pacheco, K. (2021). Identificación y susceptibilidad de *Candida* spp. en el área ginecológica. *Revista Vive*, 4(11), 335–344. <https://doi.org/10.33996/revistavive.v4i11.97>
- Organización Mundial de la Salud. (2019). *Guía sobre la reglamentación relativa al transporte de sustancias infecciosas 2019–2020*. bit.ly/411bAhY
- Paladine, H., & Desai, U. (2018). Vaginitis: Diagnosis and Treatment. *American Family Physician*, 97(5), 321–329. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29671516/>

- Perurena, M., Pérez, Y., Fernández, C., Martínez, G., & Illnait, M. (2016). Susceptibilidad antifúngica de aislados vaginales de *Candida* spp. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 68(3), 248–254.
- Pristov, K., & Ghannoum, M. (2019). Resistance of *Candida* to azoles and echinocandins worldwide. *Clinical Microbiology and Infection*, 25(7), 792–798. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2019.03.028>
- Riedel, S., Hobden, J., Miller, S., Morse, S., Mietzner, T., Detrick, B., Mitchell, T., Sakanari, J., Hotez, P., & Mejia, R. (2020). *Jawetz, Melnick & Adelberg Microbiología Médica* (28th ed.). McGrawHill.
- Rio, C., Castañeda, J., Morlett, J., & Fuente, N. (2019). Identificación bioquímica y estandarización de la extracción de ADN de especies de *Candida* aisladas de microbiota vaginal. *Revista de Ciencias Farmacéuticas y Biomedicina*, 1, 49. <https://rcfb.uanl.mx/index.php/rcfb/article/view/248/239>
- Salehipour, K., Aboutalebian, S., Charsizadeh, A., Ahmadi, B., & Mirhendi, H. (2021). Differentiation of *Candida albicans* complex species isolated from invasive and non-invasive infections using HWP1 gene size polymorphism. *Current Medical Mycology*, 7(2), 34–38. <https://doi.org/10.18502/cmm.7.2.7034>
- Sánchez, E. (2017). *Correlación diagnóstica entre técnicas citológicas y citobacteriológicas y su relación con agentes biológicos infecciosos en el aparato genital femenino, en mujeres que acuden a la unidad oncológica SOLCA Tungurahua* [Universidad Técnica de Ambato]. <https://repositorio.uta.edu.ec/jspui/handle/123456789/24908>
- Sánchez, M., & González, V. (2021). Infecciones vaginales y complicaciones durante el embarazo en usuarias del Centro de Salud Universitario de Motupe – Loja. *CEDAMAZ*, 11(2), 119–123. <https://doi.org/10.54753/cedamaz.v11i2.1180>
- Sangaré, I., Sirima, C., Bamba, S., Zida, A., Cissé, M., Bazié, W., Sanou, S., Dao, B., Menan, H., & Guiguemdé, R. (2018). Prevalence of vulvovaginal candidiasis in pregnancy at three health centers in Burkina Faso. *Journal de Mycologie Médicale*, 28(1), 186–192. <https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2017.08.006>
- Suárez, P., Bello, A., Puello, M., Young, G., Durán, M., & Arechavala, A. (2018). Vaginal colonization and vulvovaginitis by *Candida* species in pregnant women from Northern of Colombia. *Archivos de Medicina (Manizales)*, 18(1), 51–59. <https://doi.org/10.30554/archmed.18.1.2010.2018>
- Unidad de Gestión Ambiental del Hospital Universitario de Ramón y Cajal. (2020). *Guía básica de gestión de residuos en los laboratorios de investigación* (1st ed.). bit.ly/3KbhyqL

- Waikhom, S., Afeke, I., Kwawu, G., Mbroh, H., Osei, G., Louis, B., Deku, J., Kasu, E., Mensah, P., Agede, C., Dodoo, C., Asiamah, E., Tampuori, J., Korbuvi, J., & Opintan, J. A. (2020). Prevalence of vulvovaginal candidiasis among pregnant women in the Ho municipality, Ghana: Species identification and antifungal susceptibility of *Candida* isolates. *BMC Pregnancy and Childbirth*, *20*(1). <https://doi.org/10.1186/s12884-020-02963-3>
- Whaley, S., Berkow, E., Rybak, J., Nishimoto, A., Barker, K., & Rogers, P. (2017). Azole antifungal resistance in *Candida albicans* and emerging non-*albicans* *Candida* Species. *Frontiers in Microbiology*, *7*(JAN). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.02173>
- Willems, H., Ahmed, S., Liu, J., Xu, Z., & Peters, B. (2020). Vulvovaginal candidiasis: A current understanding and burning questions. *Journal of Fungi*, *6*(1). <https://doi.org/10.3390/jof6010027>
- Zambrano, F., Veliz, N., Guillen, M., Eche, R., Macías, J., & Lino, T. (2018). Infecciones vaginales en mujeres en edad fértil. *Polo Del Conocimiento*, *3*(9), 251. <https://doi.org/10.23857/pc.v3i9.723>

11 Anexos

11.1 Anexo 1. Oficio de estructura, coherencia y pertinencia para ejecutar la investigación.



unl

Universidad
Nacional
de Loja

Facultad
de la Salud
Humana

Loja, 27 julio del 2022

Dra. Sandra Freire Cuesta.
DIRECTORA CARRERA LABORATORIO CLINICO

Ciudad. -

De mi consideración:

Por medio del presente me permito dar a conocer el informe de pertinencia solicitado por el estudiante Fabián Alejandro Rosales Castro con el número de cédula 1106052515, con el tema: Tipificación de *Candida* y antifungigrama en muestras de secreción vaginal de mujeres embarazadas del Centro de Salud Universitario de Motupe.

Después de haber revisado el mencionado proyecto de trabajo de integración curricular y cumplidas las sugerencias por parte del estudiante, el presente proyecto cumple con los requisitos de ESTRUCTURA, COHERENCIA Y PERTINENCIA para ejecutar la investigación.

Por la favorable atención a la presente, antelo los debidos agradecimientos.



Firmado electrónicamente por:
**HUMBERTO DANIEL
RIASCOS
JARAMILLO**

BqF. Humberto Daniel Riascos Jaramillo.

DOCENTE CARRERA DE LABORATORIO CLINICO

11.2 Anexo 2. Oficio de permiso para el procesamiento de muestras en el Laboratorio de Parasitología y Microbiología de la Facultad de la Salud Humana



unl

Universidad
Nacional
de Loja

Facultad
de la Salud
Humana

Of. No. 2022-0746-DFSH-UNL
Loja, 27 de octubre de 2022

Señor
Fabián Alejandro Rosales Castro
ESTUDIANTE DE LA CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO
Presente.-

De mi especial consideración:

En virtud a Of. no. 2022-0798-CLC-FSH-UNL de 25 de octubre de 2022, suscrito por la Dra. Sandra Freire Cuesta, Directora de la Carrera de Laboratorio Clínico, en mi calidad de Autoridad Académica de esta Facultad, en el marco del trabajo de integración curricular denominado: **"TIPIFICACION DE CANDIDA Y ANTIFUNGIGRAMA EN MUESTRAS DE SECRECION VAGINAL DE MUJERES EMBARAZADAS DEL CENTRO DE SALUD UNIVERSITARIO DE MOTUPE"**; autorizo el uso de los Laboratorios de Parasitología y Microbiología, para el procesamiento y análisis conforme corresponda.

De la misma manera, autorizo a la Lic. Silvia Molina Carrión, Responsable de los Laboratorios de Parasitología y Microbiología, brinde el apoyo requerido por el Sr. Rosales Castro.

Aprovecho la oportunidad para reiterar mi sentimiento de consideración y estima.

Atentamente,
**EN LOS TESOROS DE LA SABIDURIA,
ESTA LA GLORIFICACION DE LA VIDA.**



SANTOS AMABLE
BERMEO FLORES

Dr. Amable Bermeo Flores, Mg, Sc.
DECANO FACULTAD DE LA SALUD HUMANA UNL.

Cc: Carrera Laboratorio Clínico; Lcda. Silvia Molina Carrión, Archivo.

ABF/ Yaira Córdova.
ANALISTA DE DESPACHO DE AUTORIDAD ACADÉMICA

11.3 Anexo 3. Consentimiento informado

CONSENTIMIENTO INFORMADO

CÓDIGO

Análisis bacteriológico en muestras de orina y fluido vaginal, para el diagnóstico temprano de enfermedades infecciosas en pacientes embarazadas que acuden al Centro de Salud Universitario de Motupe.

Fecha:

Datos del Paciente:

Número de cédula:

Semanas de gestación:

En el marco del proyecto de vinculación: “**Análisis bacteriológico en muestras de orina y fluido vaginal, para el diagnóstico temprano de enfermedades infecciosas en pacientes embarazadas que acuden al Centro de Salud Universitario de Motupe**” bajo la responsabilidad de: Ivanova Zúñiga, María del Cisne Luzuriaga, Iliana Delgado, Daniel Riascos, miembros de la comisión de vinculación de la carrera de Laboratorio Clínico de la Facultad de la Salud Humana.

Para ejecución del mismo, se necesita la recolección de muestras de orina y fluido vaginal de las pacientes embarazadas que acuden a sus atenciones prenatales al Centro de Salud Universitario de Motupe.

Los participantes del proyecto, son quienes tomaran la muestra con las respectivas indicaciones para una correcta toma de muestra y de esa manera poder realizar correctamente el análisis, mismo que se llevara a cabo en los laboratorios de docencia de la Facultad de Salud Humana.

Considerando que la muestra de orina será recolectada por el paciente, debe tener en cuenta ciertas indicaciones: aseo previo antes de la toma de muestra, deberá recoger la primera micción de la mañana, segundo chorro con toda la asepsia posible.

Toda la información recolectada será recopilada y procesará con estricta confidencialidad para asegurar la privacidad de las pacientes embarazadas.

DECLARACIÓN DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA OBTENCIÓN DE MUESTRAS

Siendo mayor de edad, en uso pleno de mis facultades mentales y sin presión, coacción ni violencia alguna; en completo conocimiento de la naturaleza, forma, duración, propósito, inconvenientes y riesgos relacionados con el estudio indicado, declaro mediante la presente que, he facilitado la información completa hasta mi conocimiento sobre mi estado de salud; que he sido informado de manera clara y sencilla por parte de la investigadora, de todos los aspectos relacionados con el proyecto y estoy de acuerdo con el procedimiento que se ha propuesto; que está claro, que mi participación en dicho proyecto consiste en entregar una muestra de orina y fluido vaginal para que sea procesada y no será empleada para otros fines sin mi consentimiento.

Declaro que he sido informada de las ventajas e inconvenientes de mi participación en el proyecto. Que he escuchado, leído y comprendido toda la información recibida y se me ha

dado la oportunidad de preguntar lo que he necesitado sobre el proyecto. Además, al ser un proyecto coordinado por: Ivanova Zúñiga, María del Cisne Luzuriaga, Iliana Delgado, Daniel Riascos, miembros de la comisión de vinculación de la carrera de Laboratorio Clínico de la Facultad de la Salud Humana, por lo que me han garantizado la total confidencialidad relacionada a mi identidad como a cualquier información relacionada a mi persona, a la que tengan acceso para el desarrollo de este proyecto.

Que bajo ningún aspecto se me ha ofrecido ni prendo recibir ningún beneficio de tipo económico producto de los hallazgos que puedan producirse en el referido proyecto.

Que puedo retirarme del proyecto en caso de considerar que el mismo ya no es de mi interés o conveniencia.

Nombre, firma y número de cédula del
paciente.

Nombre, firma y número de cédula del
testigo.

NEGATIVA DEL CONSENTIMIENTO INFORMADO

Fecha:

Siendo mayor de edad, en uso pleno de mis facultades mentales y sin presión, coacción ni violencia alguna, NO autorizo y se niego a que se me realice el procedimiento propuesto, responsabilidades futuras de cualquier índole al servicio de salud y a la intervención sugerida.

REVOCATORIA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

De forma libre y voluntaria, revoco el consentimiento realizado en fecha y manifiesto expresamente mi deseo de no continuar con el procedimiento médico que doy por finalizado en esta fecha: Libero de responsabilidades futuras de cualquier índole al establecimiento de salud y al profesional sanitario que me atiende.

Nombre, firma y número de cédula del
paciente.

Nombre, firma y número de cédula del
testigo


11.4 Anexo 4. Hoja de recolección de datos.

Tabla de recolección de datos para el trabajo de integración curricular: “Tipificación de *Candida* y antifungigrama en muestras de secreción vaginal de mujeres embarazadas del Centro de Salud Universitario de Motupe”.

Estudiante: Fabián Alejandro Rosales Castro

Número:	Nombres y Apellidos	Edad	Periodo de gestación en semanas	Cédula	Celular	Código	Fecha	Observaciones (Uso de antibióticos, síntomas, infecciones pasadas)

11.5 Anexo 5. Protocolo para la preparación del paciente, toma de muestra, conservación y transporte de secreción vaginal

 <p>Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana (FSH) Carrera de Laboratorio Clínico</p> <p>LOJA - ECUADOR</p> <p>ÁREA: TOMA DE MUESTRAS</p>	<p>Protocolo para la preparación del paciente, toma de muestra, conservación y transporte de secreción vaginal</p>	2022
		Versión: 1
		Nº páginas: 4

Protocolo para la preparación del paciente, toma de muestra, conservación y transporte de secreción vaginal

Objetivo: Describir el procedimiento para la preparación del paciente, toma de muestra, conservación y transporte de secreción vaginal.

Alcance: El presente procedimiento provee información práctica y aplicable para instruir al paciente y licenciado de laboratorio sobre una correcta colección de muestras de secreción vaginal.

Definiciones: La secreción vaginal es un término que se refiere a las secreciones provenientes de la vagina, está conformada principalmente por secreciones de las glándulas sudoríparas, sebáceas, de Bartholino, de Skene, células epiteliales, moco cervical y microorganismos (Sánchez, 2017).

Responsable:

Fabián Alejandro Rosales Castro.

Descripción del procedimiento:

Recursos materiales:

- Hisopo estéril con punta de dacrón (poliéster) o rayón incluido en medio de transporte tipo Stuart-Amies.
- Guantes desechables de nitrilo no estériles.
- Equipo de protección personal.

- Etiquetas identificativas.
- Camilla ginecológica.
- Foco de luz.

Indicaciones previas a la toma de la muestra de secreción vaginal para la paciente:

- Aseo genital con agua tibia (no usar jabón) en la noche previa a la toma de muestra.
- No haberse realizado una ducha vaginal previa.
- Periodo de abstinencia sexual de al menos 48 horas (2 días).
- Evitar utilizar óvulos, pomadas o cualquier otro producto que altere la secreción vaginal mínimo tres días antes de la toma de muestra.

Información al paciente: Explicar al paciente en términos que pueda comprender en que consiste la toma de muestra.

Proceso:


1. Reunir y preparar los recursos materiales de laboratorio.
2. Colocación del equipo de protección personal.
3. Rotular el contenedor del medio de transporte tipo Stuart-Amies con el nombre de la paciente.
4. Explicar a la paciente el proceso que se le realizará.
5. Pedir a la paciente que se descubra los genitales.
6. Indicar a la paciente que adopte la posición ginecológica en la camilla (paciente acostada con los pies en los estribos).
7. Lavado de manos del que realizará la toma de muestra.
8. Colocarse los guantes de nitrilo no estériles.
9. Indicar a la paciente que se iniciará con la toma de muestra y pedirle que avise si siente cualquier tipo de molestia.
10. Introducir el hisopo estéril en la vagina y rotarlo por al menos 5 segundos en las paredes vaginales.
11. Depositar el hisopo con muestra en el medio de transporte Stuart-Amies.
12. Indicar a la paciente que ha culminado el procedimiento de toma de muestra.

Conservación y transporte de muestras:


- Las muestras contenidas en los medios de transporte Stuart-Amies se transportarán y procesarán de inmediato, sin embargo, se pueden mantener a temperatura ambiente hasta 24 horas.
- Para el transporte se toma en cuenta el envasado triple: Las muestras se transportarán en un recipiente primario bien cerrado, en este caso contenedores de medio de transporte Stuart-Amies ubicados en una gradilla, se envolverá este recipiente en material absorbente y se lo colocará en una bolsa plástica impermeable (contenedor secundario), y a estos recipientes se los colocará en una caja de transporte, en este caso un cooler térmico (recipiente terciario).
- Cualquier documentación debe ser trasladada separada de la muestra.

BIBLIOGRAFÍA:

1. Castro, D., Flores, P., Sánchez, K., Sepúlveda, M., & Gutiérrez, M. (2020). *Protocolo procedimientos relacionados con el proceso de toma de muestra y su traslado* (6th ed.). bit.ly/3jY7oiB
2. Galán, J., Lepe, J., Otero, L., Serra, J., & Vázquez, F. (2018). *Diagnóstico microbiológico de las infecciones de transmisión sexual y otras infecciones genitales*. Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). bit.ly/3IvS8CU
3. Organización Mundial de la Salud. (2019). *Guía sobre la reglamentación relativa al transporte de sustancias infecciosas 2019–2020*. bit.ly/411bAhY
4. Sánchez, E. (2017). *Correlación diagnóstica entre técnicas citológicas y citobacteriológicas y su relación con agentes biológicos infecciosos en el aparato genital femenino, en mujeres que acuden a la unidad oncológica SOLCA Tungurahua* [Universidad Técnica de Ambato]. <https://repositorio.uta.edu.ec/jspui/handle/123456789/24908>

ELABORADO POR:	Fabián Alejandro Rosales Castro	Fabián Rosales Firmado digitalmente por Fabián Rosales Fecha: 2023.05.10 17:37:38 -05'00'
Aprobado por:	Alicia Villavicencio Obando, PhD	 Firmado electrónicamente por: ALICIA SILVANA VILLAVICENCIO OBANDO

11.6 Anexo 6. Protocolo de preparación y almacenamiento de agar Sabouraud

 <p>Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana (FSH) Carrera de Laboratorio Clínico</p> <p>LOJA - ECUADOR</p>	Protocolo de preparación y almacenamiento de agar Sabouraud	2022
		Versión: 1
ÁREA: MICROBIOLOGÍA		Nº páginas: 3

Protocolo de preparación y almacenamiento de agar Sabouraud

Objetivo: Describir el procedimiento para la preparación y almacenamiento de agar Sabouraud.

Alcance: El presente procedimiento provee información práctica y aplicable para instruir al licenciado de laboratorio sobre una correcta preparación y almacenamiento de agar Sabouraud..

Definiciones: El Agar Sabouraud dextrosa es un medio de cultivo recomendado para levaduras, hongos filamentosos (mohos) y bacterias acidúricas. Se compone de glucosa (dextrosa), peptona micológica y agar. La peptona aporta compuestos nitrogenados y la dextrosa la fuente de energía para el crecimiento de microorganismos. Cuando está preparado, su pH ácido (5.4 - 5.8) favorece el crecimiento de hongos, pero inhibe el de ciertas bacterias (HiMEDIA Laboratories, 2018).

Responsable:

Fabián Alejandro Rosales Castro.

Descripción del procedimiento:

Recursos materiales:

- Balanza de laboratorio.
- Agua destilada.
- Estufa eléctrica de laboratorio.
- Autoclave.
- Cajas Petri estériles.

- Guantes de nitrilo no estériles.
- Tapón de gasa
- Matraz de 500 ml.

Proceso:

1. Reunir y preparar los recursos materiales de laboratorio.
2. Pesar 65 gramos de agar en la balanza de laboratorio.
3. Suspender los 65 gramos de agar en 1000 ml de agua destilada en un matraz de laboratorio y agitar.

Nota: En caso de necesitar menos volumen de agar, hacer una regla de 3.


4. Tapar el matraz con un tapón de gasa y poner a hervir (agitar en el proceso) hasta que el agar tenga un aspecto claro.
5. Autoclavar a 121°C por 15 minutos a 1 atmósfera (15 libras de presión).
6. Eliminar presión del autoclave y abrir la tapa de este.
7. Dejar enfriar el agar hasta 45-50°C.
8. Agitar el agar y dispensar en las cajas Petri estériles.
9. Esperar que el agar se solidifique, y al reverso de la caja Petri anotar la fecha de elaboración.

Almacenamiento y conservación:


- El agar en polvo se conserva entre 10-30°C en un recipiente cerrado herméticamente en un lugar sin humedad y ventilado. Utilizar antes de la fecha de vencimiento.
- El agar preparado se conserva en refrigeración (2-8 °C). Utilizar antes de la fecha de vencimiento.

BIBLIOGRAFÍA:

1. HiMEDIA Laboratories. (2018). *Sabouraud Dextrose Agar*. www.himedialabs.com

ELABORADO POR:	Fabián Alejandro Rosales Castro	Fabián Rosales Firmado digitalmente por Fabián Rosales Fecha: 2023.05.10 17:37:38 -05'00'
Aprobado por:	Alicia Villavicencio Obando, PhD	 Firmado electrónicamente por: ALICIA SILVANA VILLAVICENCIO OBANDO

11.7 Anexo 7. Protocolo de preparación y almacenamiento de agar Mueller-Hinton suplementado con glucosa y azul de metileno

 <p>Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana (FSH) Carrera de Laboratorio Clínico</p> <p>LOJA - ECUADOR</p> <p>ÁREA: MICROBIOLOGÍA</p>	<p>Protocolo de preparación y almacenamiento de agar Mueller-Hinton suplementado con glucosa y azul de metileno</p>	2022
		Versión: 1
		Nº páginas: 3

Protocolo de preparación y almacenamiento de agar Mueller-Hinton suplementado con glucosa y azul de metileno

Objetivo: Describir el procedimiento para la preparación y almacenamiento de agar Mueller-Hinton suplementado con glucosa y azul de metileno.

Alcance: El presente procedimiento provee información práctica y aplicable para instruir al licenciado de laboratorio sobre una correcta preparación y almacenamiento de agar Mueller-Hinton suplementado con glucosa y azul de metileno.

Definiciones: El agar Mueller-Hinton es utilizado universalmente para hacer pruebas de susceptibilidad con antimicrobianos en medio sólido a través del método de disco difusión, está compuesto por infusión de carne, peptona ácida de caseína, almidón y agar (Laboratorios Britania, 2021). Para realizar esta prueba en levaduras se utiliza este agar suplementado con 2% de glucosa y 0.5 µg/mL de azul de metileno. La glucosa permite un mejor crecimiento de hongos y el azul de metileno facilita la observación de los halos de inhibición (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2018)

Responsable:

Fabián Alejandro Rosales Castro.

Descripción del procedimiento:

Recursos materiales:

- Balanza de laboratorio.
- Agua destilada.
- Estufa eléctrica de laboratorio.
- Pipeta automática.
- Autoclave.
- Cajas Petri estériles.
- Guantes de nitrilo no estériles.
- Tapón de gasa
- Matraz de laboratorio.

Proceso:

1. Reunir y preparar los recursos materiales de laboratorio.
2. Pesar 37 gramos de agar en la balanza de laboratorio.
3. Suspender los 37 gramos de agar en 1000 ml de agua destilada en un matraz de laboratorio y agitar.
4. Disolver 0.1 gramos de azul de metileno en 20 ml de agua destilada y calentar levemente para disolver. Agregar 100 µL de esta solución por cada 1000 ml de suspensión de agar.
5. Añadir 20 gramos de glucosa por cada 1000 ml de suspensión de agar.
6. Dejar reposar por 10-15 minutos.
Nota: En caso de necesitar menos volumen de agar, hacer una regla de 3 de los reactivos presentados.
7. Tapar el matraz con un tapón de gasa y poner a hervir (agitar en el proceso) hasta que el agar tenga un aspecto claro.
8. Autoclavar a 121°C por 15 minutos a 1 atmósfera (15 libras de presión).
9. Eliminar presión del autoclave y abrir la tapa de este.
10. Dejar enfriar el agar hasta 45-50°C.
11. Dispensar un volumen apropiado en las cajas Petri estériles para que el espesor del agar (alto) sea de 4mm.

Nota: Para medir el pH del medio, se debe tomar una alícuota del agar antes de gelificar de volumen suficiente como para sumergir la punta de un electrodo de pH. El medio de agar debe tener un pH entre 7.2 y 7.4 a temperatura ambiente.

12. Esperar que el agar se solidifique, y al reverso de la caja Petri o en el envoltorio donde se almacenaran anotar la fecha de elaboración.
13. Se incuba un agar sin inocular de cada lote preparado a una temperatura de 30 a 35° para examinar la esterilidad.



Nota: Procedimiento obtenido de la casa comercial Laboratorios Britania (2021) modificado según las indicaciones del CLSI (2018).

Almacenamiento y conservación:

- El agar deshidratado se conserva entre 10-35°C en un recipiente cerrado herméticamente en un lugar sin humedad y ventilado. Utilizar antes de la fecha de vencimiento.
- El agar preparado se puede conservar en refrigeración de 2 a 8°C, y se deben usar dentro de los siete días posteriores a la preparación. El tiempo de almacenamiento puede extenderse si se envuelve la caja Petri con una envoltura de plástico para disminuir el secado del agar.


BIBLIOGRAFÍA:

1. Clinical and Laboratory Standards Institute. (2018). *M44 Method for Antifungal Disk Diffusion Susceptibility Testing of Yeasts* (3rd ed., Vol. 38). CLSI.
2. Laboratorios Britania. (2021). *Mueller Hinton Agar*.
https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_6070756160103.pdf

ELABORADO POR:	Fabián Alejandro Rosales Castro	 Firmado digitalmente por Fabián Rosales Fecha: 2023.05.10 17:37:38 -05'00'
Aprobado por:	Alicia Villavicencio Obando, PhD	 Firmado electrónicamente por: ALICIA SILVANA VILLAVICENCIO OBANDO

11.8 Anexo 8. Protocolo de preparación y almacenamiento del agar CHROMagar

Candida

 <p>Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana (FSH) Carrera de Laboratorio Clínico</p> <p>LOJA - ECUADOR</p> <p>ÁREA: MICROBIOLOGÍA</p>	Protocolo de preparación y almacenamiento del agar CHROMagar <i>Candida</i>	2022
		Versión: 1
		Nº páginas: 3

Protocolo de preparación y almacenamiento del agar CHROMagar *Candida*

Objetivo: Describir el procedimiento para la preparación y almacenamiento del agar CHROMagar *Candida*.

Alcance: El presente procedimiento provee información práctica y aplicable para instruir al licenciado de laboratorio sobre una correcta preparación y almacenamiento del agar CHROMagar *Candida*.

Definiciones: CHROMagar *Candida* es un medio de cultivo cromogénico selectivo que permite detectar de manera rápida especies de la levadura *Candida* a través de la observación directa del color de las colonias formadas en el agar. Este agar está compuesto por agar, peptona, mezcla cromogénica y cloranfenicol. Las colonias tienen cierto color según especie de *Candida*: *C. albicans* son verdes; *C. tropicalis* azul metálico; *C. krusei* rosa, rizadas; *C. kefyr*, *C. glabrata* de malva a marrón; y otras especies de blanco a malva (CHROMagar, 2022).

Responsable:

Fabián Alejandro Rosales Castro.

Descripción del procedimiento:

Recursos materiales:

- Balanza de laboratorio.
- Agua destilada.

- Estufa eléctrica de laboratorio.
- Cajas Petri estériles.
- Guantes de nitrilo no estériles.
- Matraz de laboratorio.

Proceso:

1. Reunir y preparar los recursos materiales de laboratorio.
2. Autoclavar el agua destilada a utilizar.
3. Pesar 47.7 gramos de agar en la balanza de laboratorio.
4. Suspender los 47.7 gramos de agar en 1000 ml de agua destilada en un matraz de laboratorio y agitar hasta que se haya espesado bien.

Nota: En caso de necesitar menos volumen de agar, hacer una regla de 3.

5. Calentar en la plancha de laboratorio hasta ebullición (100°C), agitar en el proceso.

Nota: No calentar a más de 100 °C. No autoclavar a 121°C.


6. Dejar enfriar el agar hasta 45-50°C, agitar suavemente.
7. Dispensar en las cajas Petri estériles.
8. Esperar que el agar se solidifique, y al reverso de la caja Petri anotar la fecha de elaboración.

Almacenamiento y conservación:

- Almacenar el agar deshidratado en oscuridad antes de usar, se conserva entre 10-35°C en un recipiente cerrado herméticamente en un lugar sin humedad y ventilado. Utilizar antes de la fecha de vencimiento.
- El agar preparado se puede conservar un día a temperatura ambiente. En refrigeración (2-8 °C) se puede almacenar hasta dos meses, proteger de la luz y deshidratación.

BIBLIOGRAFÍA:

1. CHROMagar. (2022). *CHROMagar Candida. Instructions For Use*. bit.ly/3Eh6pRw

ELABORADO POR:	Fabián Alejandro Rosales Castro	Fabián Rosales Firmado digitalmente por Fabián Rosales Fecha: 2023.05.10 17:37:38 -05'00'
Aprobado por:	Alicia Villavicencio Obando, PhD	 Firmado electrónicamente por: ALICIA SILVANA VILLAVICENCIO OBANDO



11.9 Anexo 9. Hoja de registro de temperatura de la incubadora

Tabla de registro de temperatura de la incubadora utilizada en la elaboración del proyecto: “Tipificación de *Candida* y antifungigrama en muestras de secreción vaginal de mujeres embarazadas del Centro de Salud Universitario de Motupe”.


Estudiante: Fabián Alejandro Rosales Castro

Mes: 1	Temperatura	Observaciones
Día 1		
Día 2		
Día 3		
Día 4		
Día 5		
Día 6		
Día 7		
Día 8		
Día 9		
Día 10		
Día 11		
Día 12		
Día 13		
Día 14		
Día 15		
Día 16		
Día 17		
Día 18		
Día 19		

Día 20		
Día 21		
Día 22		
Día 23		
Día 24		
Día 25		
Día 26		
Día 27		
Día 28		
Día 29		
Día 30		
Día 31		

ELABORADO POR:	Fabián Alejandro Rosales Castro	 <p>Firmado digitalmente por Fabián Rosales Fecha: 2023.05.10 17:37:38 -05'00'</p>
Aprobado por:	Alicia Villavicencio Obando, PhD	 <p>Firmado electrónicamente por: ALICIA SILVANA VILLAVICENCIO OBANDO</p>

11.10 Anexo 10. Protocolo de control de calidad del antifungigrama mediante el uso de la cepa control *Candida albicans* ATCC 90028

 <p>Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana (FSH) Carrera de Laboratorio Clínico</p> <p>LOJA - ECUADOR</p> <p>ÁREA: MICROBIOLOGÍA</p>	<p>Protocolo de control de calidad del antifungigrama mediante el uso de la cepa control <i>Candida albicans</i> ATCC 90028</p>	2022
		Versión: 1
		Nº páginas: 3

Protocolo de control de calidad mediante el uso de la cepa control *Candida albicans* ATCC 90028

Objetivo: Describir el procedimiento para el control de calidad del antifungigrama mediante el uso de la cepa control *Candida albicans* ATCC 90028.

Alcance: El presente procedimiento provee información práctica y aplicable para instruir al licenciado de laboratorio sobre un correcto procedimiento para el control de calidad del antifungigrama mediante el uso de la cepa control *Candida albicans* ATCC 90028.

Definiciones: Según el manual M44 edición 3 del CLSI (2018), se debe examinar la esterilidad de una muestra representativa de cada lote de agar Mueller-Hinton suplementado con glucosa y azul de metileno preparado con la incubación de 30 a 35°C por más de 24 horas. Pero más importante, se controla la precisión y exactitud de los resultados del antifungigrama a través del uso de cepas control que se analizan mediante el procedimiento estándar de prueba por difusión en disco, es decir, se las trata igual que a un aislamiento clínico. El rendimiento de esta prueba se monitorea comparando los diámetros de los halos de inhibición obtenidos con los diámetros de referencia del manual según la cepa control. Para la *Candida albicans* ATCC 90028, el diámetro de referencia para fluconazol el de 28 a 39 mm, y para voriconazol de 31 a 42 mm.

Responsable:

Fabián Alejandro Rosales Castro.

Descripción del procedimiento:

Recursos materiales:

- Agar Mueller-Hinton suplementado con glucosa y azul de metileno preparado.
- *Candida albicans* ATCC 90028.
- Densitómetro.
- Hisopos estériles.
- Solución salina (0.85%).
- Guantes de nitrilo no estériles.
- Mechero de alcohol.
- Fósforos.

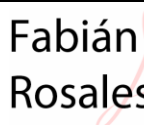

Proceso:

1. Los microorganismos a ponerse a prueba en el antifungigrama deben estar subcultivados en agar Sabouraud dextrosa para garantizar la pureza y viabilidad, la incubación tuvo que ser siempre de entre 33-37°C. Se examinan las colonias con el microscopio a través de una preparación en fresco con el objetivo de 40x para verificar la presencia de *Candida*
2. El inóculo se prepara seleccionando cinco colonias diferentes de al menos 1 mm y recogiendo un poco de cada una con un hisopo estéril (el cultivo debe tener al menos 24 horas).
3. Las colonias se suspenden en tubos estériles con 5 ml de solución salina estéril (Al 0.85% o 8.5 g/l de NaCl) o agua destilada.
Nota: Se debe asegurar la esterilidad de los tubos con 5 ml de solución salina o agua destilada, por lo que antes de utilizarlos se autoclavan a 121°C por 15 minutos a 1 atmósfera. Para más control, luego de autoclavar se siembra el contenido de una muestra del lote de tubos preparados en agar Sabouraud dextrosa y se incuba a 35° para verificar esterilidad.
4. La suspensión resultante se agita por 15 segundos, y se analiza y ajusta la turbidez hasta tener un valor de 0.5 McFarland (se tendrá una suspensión con 1×10^6 a 5×10^6 células por ml).
5. Luego de haber ajustado la turbidez, se sumerge un hisopo estéril en la suspensión, luego, este se debe girar varias veces y presionarse contra la pared interior del tubo por encima del líquido para eliminar el exceso.


6. Se inocula el agar realizando estrías uniformes con el hisopo sobre toda la superficie del agar, este procedimiento se repite girando la caja Petri 60° para asegurar una distribución uniforme del inóculo.
7. La tapa de la caja Petri se deja entreabierta por 3 a 5 minutos para eliminar el exceso de humedad de la superficie.
8. Se distribuyen los discos antimicrobianos, al poner el disco sobre el agar se lo debe presionar ligeramente para su completo contacto con la superficie. Si se coloca más de un disco, estos deben estar separados no menos de 24 mm de centro a centro.
Nota: No colocar más de 12 discos en una caja Petri de 150 mm, o más de 5 en las de 100 mm.
9. Invertir la caja Petri y colocar en incubación a una temperatura de 33-37°C dentro de los 15 minutos luego de haber colocado los discos antimicrobianos.
10. Examinar la caja Petri luego de 20 a 24 horas (48 horas si el crecimiento es insuficiente) de incubación, hacer la observación de los halos encima de un fondo negro no reflectante junto con iluminación.
11. Medir el diámetro del halo de inhibición.
12. Comparar los diámetros obtenidos con los respectivos diámetros expuestos en el manual M44 del CLSI y verificar si se ha cumplido o no con el control de calidad.

BIBLIOGRAFÍA:

1. Clinical and Laboratory Standards Institute. (2018). *M44 Method for Antifungal Disk Diffusion Susceptibility Testing of Yeasts* (3rd ed., Vol. 38). CLSI.

ELABORADO POR:	Fabián Alejandro Rosales Castro	 Firmado digitalmente por Fabián Rosales Fecha: 2023.05.10 17:37:38 -05'00'
Aprobado por:	Alicia Villavicencio Obando, PhD	 Firmado electrónicamente por: ALICIA SILVANA VILLAVICENCIO OBANDO

11.11 Anexo 11. Protocolo de la técnica de siembra e incubación de las muestras de secreción vaginal en agar Sabouraud.

 <p>Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana (FSH) Carrera de Laboratorio Clínico</p> <p>LOJA - ECUADOR</p> <p>ÁREA: MICROBIOLOGÍA</p>	Protocolo de la técnica de siembra e incubación de las muestras de secreción vaginal en agar Sabouraud.	2022
		Versión: 1
		Nº páginas: 3

Protocolo de la técnica de siembra e incubación de las muestras de secreción vaginal en agar Sabouraud.

Objetivo: Describir el procedimiento para la técnica de siembra e incubación de las muestras de secreción vaginal en agar Sabouraud.

Alcance: El presente procedimiento provee información práctica y aplicable para instruir al licenciado de laboratorio sobre una correcta técnica de siembra e incubación de las muestras de secreción vaginal en agar Sabouraud.

Definiciones: Para estudiar las propiedades de un microorganismo es necesario aislarlo a través de cultivos puros donde solo esté el microorganismo de interés, para los cultivos en caja Petri existen varios métodos, y en este caso se utilizará la de estriado en placa que consiste en la creación de estrías sucesivas, en donde cada estría habrá un número menor de células hasta inocular una sola célula, este proceso da lugar a colonias bien aisladas (Riedel et al., 2020).

Responsable:

Fabián Alejandro Rosales Castro.

Descripción del procedimiento:

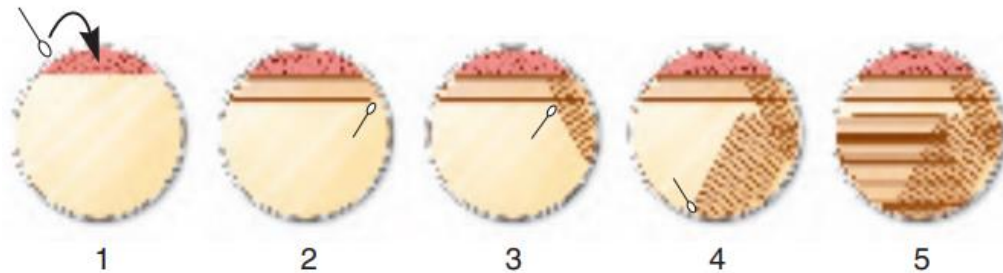
Recursos materiales:

- Medio de transporte tipo Stuart-Amies con muestra de secreción vaginal
- Agar Sabouraud dextrosa previamente preparado

- Mechero de alcohol.
- Fósforos.
- Guantes de nitrilo no estériles.

Proceso:


1. Colocarse guantes de nitrilo no estériles.
2. Rotular la caja Petri donde se hará la inoculación.
3. Encender el mechero de alcohol y colocarse frente a él.
4. Destapar el Medio de transporte tipo Stuart-Amies con muestra de secreción vaginal.
5. Destapar el Agar Sabouraud y con el hisopo del medio de transporte, hacer la técnica de estriado en placa siguiendo el proceso de la siguiente imagen.




6. Tapar el medio de cultivo, invertirlo y colocarlo en incubación en aerobiosis a una temperatura de 33-37°C por 24 a 48 horas.
7. Luego de la incubación observar el crecimiento de microorganismos e identificar las colonias.

BIBLIOGRAFÍA:

1. Riedel, S., Hobden, J., Miller, S., Morse, S., Mietzner, T., Detrick, B., Mitchell, T., Sakanari, J., Hotez, P., & Mejia, R. (2020). *Jawetz, Melnick & Adelberg Microbiología Médica* (28th ed.). McGrawHill.
2. HiMEDIA Laboratories. (2018). *Sabouraud Dextrose Agar*. www.himedialabs.com

ELABORADO POR:	Fabián Alejandro Rosales Castro	Fabián Rosales Firmado digitalmente por Fabián Rosales Fecha: 2023.05.10 17:37:38 -05'00'
Aprobado por:	Alicia Villavicencio Obando, PhD	 Firmado electrónicamente por: ALICIA SILVANA VILLAVICENCIO OBANDO

11.12 Anexo 12. Protocolo de antifungigrama en agar Mueller-Hinton suplementado con glucosa y azul de metileno.

 <p>Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana (FSH) Carrera de Laboratorio Clínico</p> <p>LOJA - ECUADOR</p> <p>ÁREA: MICROBIOLOGÍA</p>	<p>Protocolo de antifungigrama en agar Mueller-Hinton suplementado con glucosa y azul de metileno</p>	2022
		Versión: 1
		Nº páginas: 4

Protocolo de antifungigrama en agar Mueller-Hinton suplementado con glucosa y azul de metileno

Objetivo: Describir el antifungigrama en agar Mueller-Hinton suplementado con glucosa y azul de metileno.

Alcance: El presente procedimiento provee información práctica y aplicable para instruir al licenciado de laboratorio sobre un correcto antifungigrama en agar Mueller-Hinton suplementado con glucosa y azul de metileno.

Definiciones: El antifungigrama para levaduras por prueba de difusión en disco es una técnica que consiste en sembrar colonias de estos microorganismos en agar Mueller-Hinton suplementado con glucosa y azul de metileno, la inoculación se realiza haciendo estrías uniformes con el hisopo sobre toda su superficie con el fin de lograr una distribución uniforme del inóculo, luego se aplican los discos con antibiótico, se incuba y finalmente se miden los halos de inhibición para determinar si el microorganismo aislado es susceptible o resistente al antimicótico puesto a prueba.

Responsable:

Fabián Alejandro Rosales Castro.

Descripción del procedimiento:

Recursos materiales:

- Agar Mueller-Hinton suplementado con glucosa y azul de metileno preparado previamente.
- Colonias de levaduras aisladas en agar Sabouraud dextrosa.
- Densitómetro.
- Hisopos estériles.
- Solución salina (0.85%).
- Guantes de nitrilo no estériles.
- Mechero de alcohol.
- Fósforos.

Proceso:

1. Todos los organismos a sembrar deben estar aislados en agar Sabouraud dextrosa para garantizar la pureza y viabilidad de estos. La incubación tuvo que ser siempre de entre 33-37°C. Se examinan las colonias presentes con el microscopio a través de una preparación en fresco con el objetivo de 40x con el propósito de identificar levaduras para poder continuar con el análisis.
2. En caso de identificar colonias de levaduras, rotular la caja Petri de agar Mueller-Hinton suplementado con glucosa y azul de metileno en donde se hará la inoculación.
3. El inóculo se prepara seleccionando cinco colonias diferentes de al menos 1 mm y recogiendo un poco de cada una con un hisopo estéril (el cultivo debe tener al menos 24 horas).
4. Las colonias se suspenden en tubos estériles con 5 ml de solución salina estéril (Al 0.85% o 8.5 g/l de NaCl) o agua destilada.
5. **Nota:** Se debe asegurar la esterilidad de los tubos con 5 ml de solución salina o agua destilada, por lo que antes de utilizarlos se autoclavan a 121°C por 15 minutos a 1 atmósfera. Para más control, luego de autoclavar se siembra el contenido de una muestra del lote de tubos preparados en agar Sabouraud dextrosa y se incuba a 35° para verificar esterilidad.
6. La suspensión resultante se agita por 15 segundos, y se analiza y ajusta la turbidez hasta tener un valor de 0.5 McFarland (se tendrá una suspensión con 1×10^6 a 5×10^6 células por ml).

7. Dentro de los 15 minutos luego de haber ajustado la turbidez, se sumerge un hisopo estéril en la suspensión, luego, este se debe girar varias veces y presionarse contra la pared interior del tubo por encima del líquido para eliminar el exceso.
8. Se inocula el agar realizando estrías uniformes con el hisopo sobre toda la superficie del agar, este procedimiento se repite girando la caja Petri 60° para asegurar una distribución uniforme del inóculo.
9. La tapa de la caja Petri se deja entreabierta por 3 a 5 minutos para eliminar el exceso de humedad de la superficie.
10. Se distribuyen los discos de fluconazol y voriconazol, al poner cada disco sobre el agar se lo debe presionar ligeramente para su completo contacto con la superficie. Los discos deben estar separados no menos de 24 mm de centro a centro.
11. Invertir la caja Petri y colocar en incubación a una temperatura de 33-37°C dentro de los 15 minutos posteriores de haber colocado los discos antimicrobianos.
12. Examinar la caja Petri luego de 20 a 24 horas (48 horas si el crecimiento es insuficiente) de incubación, hacer la observación de los halos encima de un fondo negro no reflectante junto con iluminación.
13. Medir el diámetro del halo de inhibición y anotar el perfil de susceptibilidad según la información de la siguiente tabla.

Agente antifúngico	Especie	Puntos de corte de diámetro de zona y Categorías interpretativas, en mm			
		Susceptible	Intermedio	Susceptible dosis-dependiente	Resistente
Fluconazol	<i>C. albicans</i>	≥ 17	-	14-16	≤ 13
	<i>C. glabrata</i>	-	-	≥ 15	≤ 14
	<i>C. krusei</i> ^a	-	-	-	-
	<i>C. parapsilosis</i>	≥ 17	-	14-16	≤ 13
	<i>C. tropicalis</i>	≥ 17	-	14-16	≤ 13
Voriconazol	<i>C. albicans</i>	≥ 17	15-16	-	≤ 14
	<i>C. glabrata</i> ^b	-	-	-	-
	<i>C. krusei</i>	≥ 15	13-14	-	≤ 12
	<i>C. parapsilosis</i>	≥ 17	15-16	-	≤ 14

	<i>C. tropicalis</i>	≥ 17	15–16	-	≤ 14
--	----------------------	-----------	-------	---	-----------



Nota: Tabla obtenida del manual M27M44S (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2022).

a: *C. krusei* es intrínsecamente resistente al fluconazol


b: Faltan estudios para identificar la utilidad clínica del voriconazol contra *C. glabrata*.

BIBLIOGRAFÍA:

1. CLSI. (2018). *M44 Method for Antifungal Disk Diffusion Susceptibility Testing of Yeasts, 3rd Edition* (3rd ed., Vol. 38). CLSI.
2. Clinical and Laboratory Standards Institute. (2022). *M27M44S Performance Standards for Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts* (3rd ed.).

ELABORADO POR:	Fabián Alejandro Rosales Castro	 Firmado digitalmente por Fabián Rosales Fecha: 2023.05.10 17:37:38 -05'00'
Aprobado por:	Alicia Villavicencio Obando, PhD	 Firmado electrónicamente por: ALICIA SILVANA VILLAVICENCIO OBANDO

11.13 Anexo 13. Protocolo de siembra de levaduras en CHROMagar *Candida*, incubación e identificación de la especie.

 <p>Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana (FSH) Carrera de Laboratorio Clínico</p> <p>LOJA - ECUADOR</p> <p>ÁREA: MICROBIOLOGÍA</p>	<p>Protocolo de siembra de levaduras en CHROMagar <i>Candida</i>, incubación e identificación de la especie.</p>	2022
		<p>Versión: 1</p> <p>Nº páginas: 4</p>

Protocolo de siembra de levaduras en CHROMagar *Candida*, incubación e identificación de la especie.

Objetivo: Describir el procedimiento para siembra de levaduras en CHROMagar *Candida*, incubación e identificación de la especie.

Alcance: El presente procedimiento provee información práctica y aplicable para instruir al licenciado de laboratorio sobre una correcta siembra de levaduras en CHROMagar *Candida*, incubación e identificación de la especie.

Definiciones: CHROMagar *Candida* es un medio de cultivo cromogénico selectivo que permite detectar de manera rápida especies de la levadura *Candida* a través de la observación directa del color de las colonias formadas en el agar. Este agar está compuesto por agar, peptona, mezcla cromogénica y cloranfenicol (CHROMagar, 2022). Para la siembra en este agar se utilizará la de estriado en placa que consiste en la creación de estrías sucesivas, en donde cada estría habrá un número menor de células hasta inocular una sola célula, este proceso da lugar a colonias bien aisladas (Riedel et al., 2020).

Responsable:

Fabián Alejandro Rosales Castro.

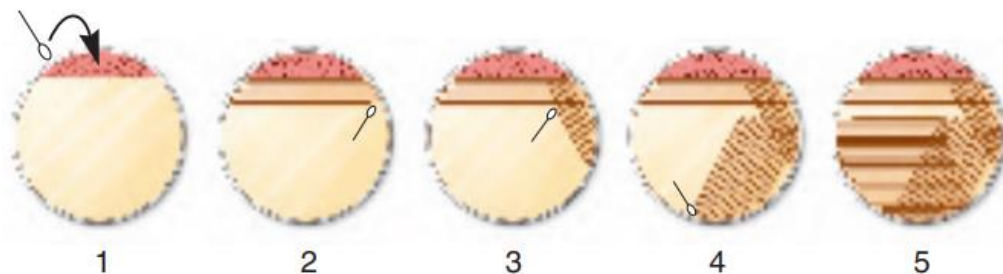
Descripción del procedimiento:

Recursos materiales:

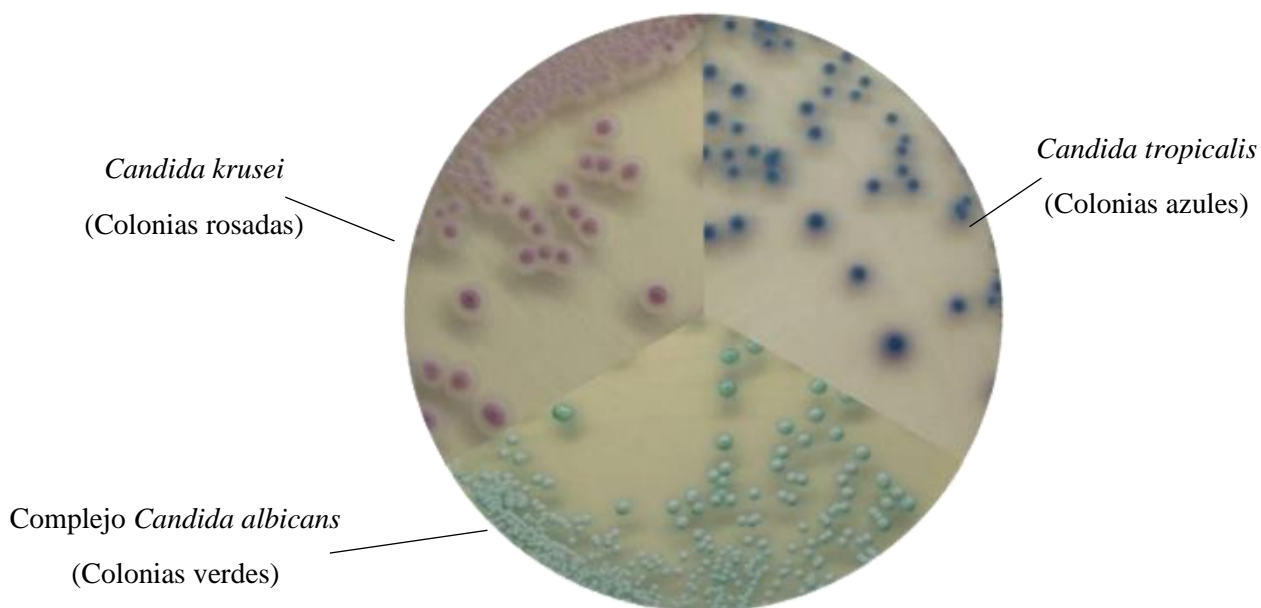
- Colonias de levaduras en Agar Sabouraud dextrosa.
- Agar CROMagar previamente preparado.
- Mechero de alcohol.
- Fósforos.
- Hisopo estéril.
- Guantes de nitrilo no estériles.

Proceso:

1. Colocarse guantes de nitrilo no estériles.
2. Si el CROMagar ha sido refrigerado, dejar que llegue a temperatura ambiente antes de la inoculación.
3. Rotular la caja Petri donde se hará la inoculación.
4. Encender el mechero de alcohol y colocarse frente a él.
5. Destapar el Agar Sabouraud dextrosa con colonias de levaduras.
6. Con un hisopo estéril, recoger colonias de levaduras del agar Sabouraud.
7. Destapar el Agar CHROMagar y con el hisopo estéril hacer la técnica de estriado en placa siguiendo el proceso de la siguiente imagen.





8. Tapar el medio de cultivo, invertirlo y colocarlo en incubación en aerobiosis a una temperatura de 35-37°C por 20, 48 y hasta 72 horas.
9. Luego de la incubación observar el crecimiento de colonias e interpretar los resultados según la siguiente figura.





Nota: Las colonias de *C. parapsilosis* y *C. glabrata* pueden tener color blanco claro-morado.



BIBLIOGRAFÍA:

1. Riedel, S., Hobden, J., Miller, S., Morse, S., Mietzner, T., Detrick, B., Mitchell, T., Sakanari, J., Hotez, P., & Mejia, R. (2020). *Jawetz, Melnick & Adelberg Microbiología Médica* (28th ed.). McGrawHill.
2. CHROMagar. (2022). *CHROMagar Candida. Instructions For Use*. bit.ly/3Eh6pRw

ELABORADO POR:	Fabián Alejandro Rosales Castro	 Firmado digitalmente por Fabián Rosales Fecha: 2023.05.10 17:37:38 -05'00'
Aprobado por:	Alicia Villavicencio Obando, PhD	 Firmado electrónicamente por: ALICIA SILVANA VILLAVICENCIO OBANDO


11.14 Anexo 14. Hoja de reporte de microbiología

 UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA VINCULACIÓN CON LA SOCIEDAD 	
HOJA DE TRABAJO DE MICROBIOLOGÍA	
CODIGO	
# HC	
NOMBRES:	EDAD:
FECHA DE SIEMBRA:	PROCEDENCIA:
MUESTRA DE:	Secreción vaginal
TERAPIA ANTIMICROBIANA:	
PRUEBA PARA CANDIDA	
Sabourand:	
Mueller S.	Fecha de siembra:
Cromo agar:	Fecha de siembra:
IDENTIFICACIÓN FÚNGICA	
Candida Identificada:	
ANTIFUNGIGRAMA	
Triazoles	
Fluconazol	
Voriconazol	
Observaciones:	


ELABORADO POR:	Fabián Alejandro Rosales Castro	 Firmado digitalmente por Fabián Rosales Fecha: 2023.05.10 17:37:38 -05'00'
Aprobado por:	Alicia Villavicencio Obando, PhD	 Firmado electrónicamente por: ALICIA SILVANA VILLAVICENCIO OBANDO

11.15 Anexo 15. Formato de reporte de resultados.

Reporte de resultados – microbiología – antifungigrama				
Paciente:		Cédula:		
Edad:				
Sexo:				
Fecha de entrega de resultados:				
Cultivo				
Muestra: Secreción vaginal		Fecha de toma de muestra:		
Microorganismo aislado:				
Prueba de sensibilidad: Difusión con disco				
Agente antifúngico	Susceptible	Intermedio	Susceptible dosis-dependiente	Resistente
Fluconazol				
Voriconazol				

ELABORADO POR:	Fabián Alejandro Rosales Castro	Fabián Rosales Firmado digitalmente por Fabián Rosales Fecha: 2023.05.10 17:37:38 -05'00'
Aprobado por:	Alicia Villavicencio Obando, PhD	 Firmado electrónicamente por: ALICIA SILVANA VILLAVICENCIO OBANDO

11.16 Anexo 16. Protocolo eliminación de desechos (medios de cultivo)

 <p>Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana (FSH) Carrera de Laboratorio Clínico</p> <p>LOJA - ECUADOR</p>	Protocolo eliminación de desechos (medios de cultivo)	2022
		Versión: 1
ÁREA: MICROBIOLOGÍA		Nº páginas: 2

Protocolo para la eliminación de desechos (medios de cultivo)

Objetivo: Describir el procedimiento para la eliminación de desechos (medios de cultivo).

Alcance: El presente procedimiento provee información práctica y aplicable para instruir al licenciado de laboratorio sobre una correcta eliminación de desechos.

Definiciones: Los medios de cultivos utilizados se consideran residuos biológicos sólidos debido a que contienen agentes biológicos viables capaces de originar infecciones, alergias o toxicidad. Por lo tanto, para su inactivación se realiza un proceso de esterilización por autoclave para la destrucción de toda forma de vida microbiana, incluidas las esporas (Alegre y Ruiz, 2018).

Responsable:

Fabián Alejandro Rosales Castro.

Descripción del procedimiento:

Recursos materiales:

- Autoclave
- Guantes de nitrilo no estériles.

Proceso:



1. Reunir los medios de cultivo utilizados a inactivar.

2. Inactivar a través del autoclave a 121°C por 15 minutos a 1 atmósfera (15 libras de presión).
3. Colocar los medios de cultivo inactivados en bolsas plásticas bien cerradas, preferiblemente de color rojo.
4. Colocar en el respectivo basurero, en este caso, utilizar el de color rojo para desechos infecciosos.


Nota: El resto del tratamiento lo hace el municipio a través de la recolección de basura.

BIBLIOGRAFÍA:

1. Alegre, J., & Ruiz, A. (2018). *Plan de gestión de residuos*. Consejo Superior de Investigaciones Científicas del IRNAS. www.irnase.csic.es
2. Unidad de Gestión Ambiental del Hospital Universitario de Ramón y Cajal. (2020). *Guía básica de gestión de residuos en los laboratorios de investigación* (1st ed.). bit.ly/3KbhyqL

ELABORADO POR:	Fabián Alejandro Rosales Castro	 Firmado digitalmente por Fabián Rosales Fecha: 2023.05.10 17:37:38 -05'00'
Aprobado por:	Alicia Villavicencio Obando, PhD	 Firmado electrónicamente por: ALICIA SILVANA VILLAVICENCIO OBANDO

11.17 Anexo 17. Proceso de entrega de resultados al Centro de Salud Universitario de Motupe.

 <p>Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana (FSH) Carrera de Laboratorio Clínico</p> <p>LOJA - ECUADOR</p> <p>ÁREA: ADMINISTRATIVA</p>	Proceso de entrega de resultados al Centro de Salud Universitario de Motupe	2022
		Versión: 1
		Nº páginas: 2

Proceso de entrega de resultados al paciente.

Objetivo: Describir el procedimiento para el proceso de entrega de resultados al Centro de Salud Universitario de Motupe.

Alcance: El presente procedimiento provee información práctica y aplicable para instruir al licenciado de laboratorio sobre una correcta entrega de resultados al Centro de Salud Universitario de Motupe

Definiciones: La entrega de resultados forma parte de la fase post analítica, y al igual que cualquier otro proceso, se necesita establecer un orden para asegurar un acceso oportuno a los resultados de los exámenes ya realizados, y de esta manera, ayudar al médico tratante a su acción oportuna para establecer un tratamiento oportuno y óptimo (Contreras, 2019).

Responsable:

Fabián Alejandro Rosales Castro.

Descripción del procedimiento:

Recursos materiales:



- Formato de reporte de resultados.
- Computadora.

Proceso:

1. Validación de resultados de laboratorio junto con el director del trabajo de integración curricular.
2. Digitalización de los resultados en una base de datos elaborada en Google Drive para la entrega de resultados al Centro de Salud Universitario de Motupe.

BIBLIOGRAFÍA:

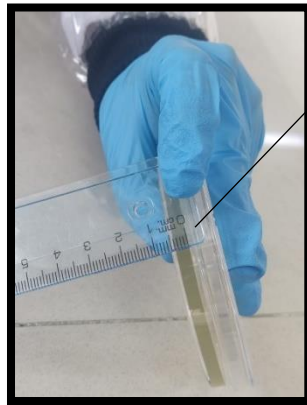
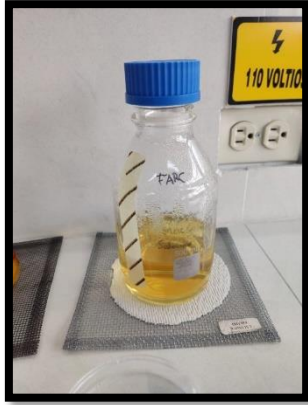
1. Contreras, F. (2019). *Entrega de resultados de laboratorio clínico*. Hospital de la Vega. bit.ly/3XBou3A

ELABORADO POR:	Fabián Alejandro Rosales Castro	 Firmado digitalmente por Fabián Rosales Fecha: 2023.05.10 17:37:38 -05'00'
Aprobado por:	Alicia Villavicencio Obando, PhD	 Firmado electrónicamente por: ALICIA SILVANA VILLAVICENCIO OBANDO

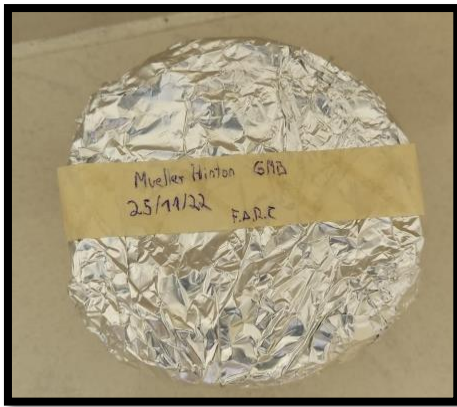
11.18 Anexo 18. Evidencias fotográficas.

Preparación de medios de cultivo.

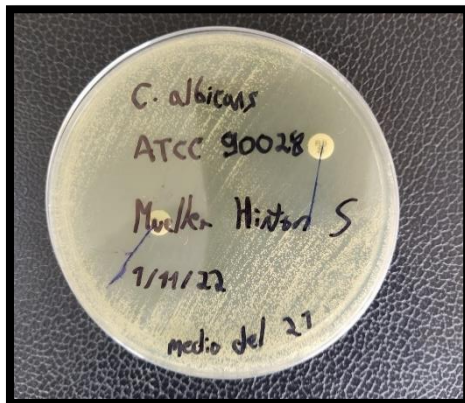
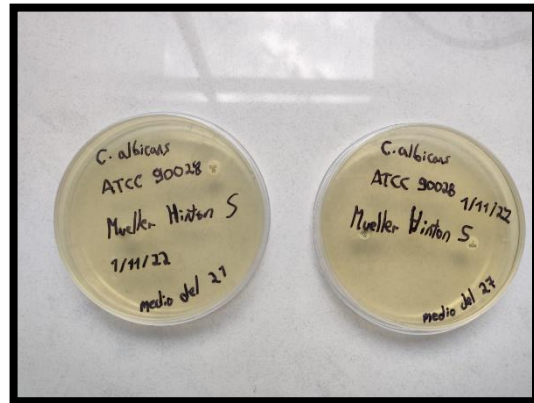




Grosor del agar
Müller-Hinton
GMB



Control de calidad con cepa control *C. albicans* ATCC 90028.





Transporte y siembra de muestras en agar Sabouraud.



Siembra de muestras en agar Müller-Hinton GMB (Antifungigrama).



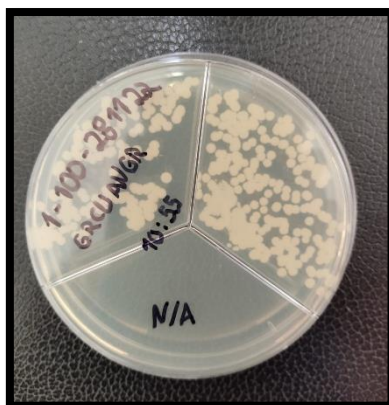
Siembra de muestras en CHROM-agar.



Incubación de muestras

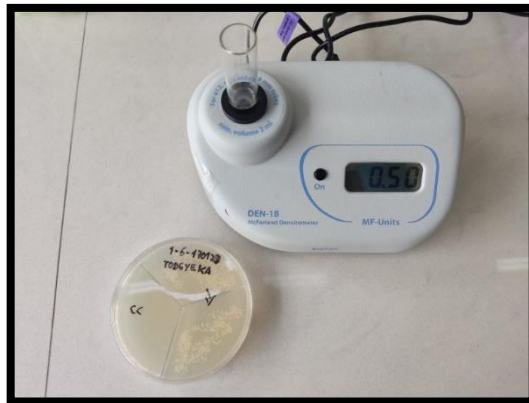
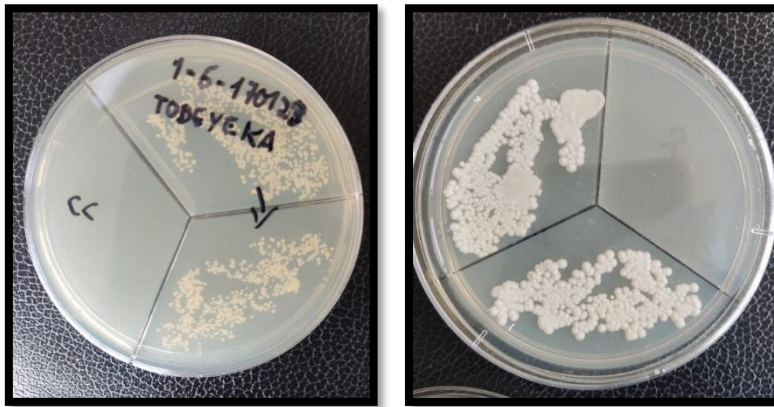


Ejemplo 1: Aislado de *C. krusei* obtenido de una muestra de secreción vaginal.





Ejemplo 2: Aislado de una especie del complejo *C. albicans* obtenido de una muestra de secreción vaginal.





Eliminación de desechos (inactivación de medios de cultivo en autoclave).



11.19 Anexo 19. Certificado de inglés.

Lic. Irma del Carmen Herrera Carrión

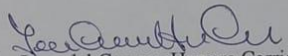
ENGLISH TEACHER

CERTIFICA:

Que el documento aquí compuesto es fiel traducción del idioma español al idioma inglés del resumen de tesis "Tipificación de *Candida* y antifungigrama en muestras de secreción vaginal de mujeres embarazadas del Centro de Salud Universitario de Motupe", autoría de Fabián Alejandro Rosales Castro con número de cédula 1106052515, estudiante de la carrera de Laboratorio Clínico de la Universidad Nacional de Loja.

Lo certifico en honor a la verdad y autorizo al interesado a hacer uso del presente en lo que a sus intereses convenga.

Loja, 24 de marzo de 2023


Lic. Irma del Carmen Herrera Carrión

Cédula: 1108434774

ENGLISH TEACHER